

引用格式:

谷可欣, 张天翼, 何泾正, 袁中伟, 范维, 尹立子. 檀香醇对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 USA300 的抑制作用[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2020, 46(5): 594–600.

GU K X, ZHANG T Y, HE J Z, YUAN Z W, FAN W, YIN L Z. Antibacterial effect of santalol on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2020, 46(5): 594–600.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



檀香醇对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 USA300 的抑制作用

谷可欣, 张天翼, 何泾正, 袁中伟, 范维, 尹立子*

(四川农业大学动物医学院, 四川 成都 611130)

摘要: 采用倍比稀释法与菌落计数法, 分别测定檀香醇对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)标准菌株 USA300 的最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC); 通过测定菌液电导率与 DNA 外渗量, 探究檀香醇对 USA300 细胞膜和细胞壁的影响; 通过 SDS-PAGE 试验, 探讨檀香醇对 USA300 可溶性蛋白代谢的作用; 采用扫描电镜和透射电镜, 观察经檀香醇处理后的 USA300 的超微结构; 采用结晶紫染色法, 研究檀香醇对 USA300 生物被膜的影响。结果表明: 檀香醇能在一定程度上抑制 USA300 的生长繁殖, 其 MIC 和 MBC 分别为 32、64 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 与对照组相比, 经 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 檀香醇处理 1 h 后的 USA300 菌体电导率增加 $3.40\% \pm 0.54\%$, 经 64、32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 檀香醇处理 6 h 后的菌体细胞内的 DNA 质量浓度显著增加($P < 0.05$), 经 64、32、16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 檀香醇处理 2、6 h 后的菌体的可溶性蛋白均极显著降低($P < 0.01$); 扫描电镜和透射电镜观察结果显示, 檀香醇处理过的 USA300 菌体细胞膜和细胞壁变化不大, 但是细胞的二分裂增殖出现明显的异常; 亚抑菌浓度的檀香醇能明显抑制 USA300 生物被膜的形成。综上可知, 檀香醇主要通过干扰细菌蛋白质代谢过程, 可明显降低菌体内的可溶性蛋白质含量, 进而影响细菌的生命活动, 而对细胞膜和细胞壁的影响甚微。由此可见, 檀香醇在新型抗 MRSA 药物的开发过程中具有较大的潜力。

关键词: 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 檀香醇; DNA 外渗量; 可溶性蛋白质; 电导率; 超微形态; 生物被膜; 抑菌作用

中图分类号: S853.74

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2020)05-0594-07

Antibacterial effect of santalol on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

GU Kexin, ZHANG Tianyi, HE Jingzheng, YUAN Zhongwei, FAN Wei, YIN Lizi*

(College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130, China)

Abstract: The minimal inhibitory concentration(MIC) and minimal bactericidal concentration(MBC) of santalol to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) standard strain USA300 were determined by colony counting and broth dilution methods, respectively. The effect of santalol on USA300 cell membrane and cell wall was measured by conductivity and DNA content in liquid. The effect of santalol in the process of soluble protein metabolism of USA300 was studied by SDS-PAGE. The ultrastructure of USA300 treated with santalol was observed by scanning electron microscope and transmission electron microscope. The effect of santalol in the formation of USA300 biofilm was determined by crystal violet staining. The results showed that santalol could inhibit the growth and reproduction of USA300. The corresponding MIC and MBC were 32 and 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively. Compared with the control group, the electrical conductivity of the bacteria treated with 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ santalol for 1 hour increased $3.40\% \pm 0.54\%$; the intracellular DNA mass concentration of bacteria treated with 64 and 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ santalol for 6 h increased significantly, while the

收稿日期: 2019-11-06

修回日期: 2019-11-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(31702284); 四川农业大学“双支”计划项目(03571444)

作者简介: 谷可欣(1983—), 女, 河北宣化人, 硕士研究生, 主要从事兽医药理学研究, gukexin_sicau@163.com; *通信作者, 尹立子, 博士, 副教授, 主要从事中药抗细菌毒力因子及其应用研究, yinlizi@sicau.edu.cn

soluble protein decreased significantly after 2 h and 6 h of treatment with 64, 32 and 16 $\mu\text{g/mL}$ santalol ($P < 0.01$). The micrographs of scanning electron microscope and transmission electron microscope showed that the cell proliferation had obvious abnormality with no changes on the USA300 cell membrane and cell wall. The results showed that the formation of USA300 biofilm could be inhibited significantly by giving santalol with subinhibitory concentration. In summary, santalol could significantly reduce the soluble protein content in the bacteria by interfering with the protein metabolism process, and affecting the life activities of bacteria. Santalol has great potential in the development of new anti-MRSA drugs.

Keywords: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; santalol; DNA exosmosis; soluble protein; conductivity; ultrastructure; biofilm; bacteriostatic effect

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)是一种常见的革兰氏阳性菌,能导致人或动物的皮肤和软组织感染、败血症和肺炎^[1]。传统抗生素主要通过抑制细菌生长和杀灭细菌来防治细菌感染。临床上,由于抗生素的滥用,导致了耐药菌株的出现^[2]。据报道^[3],在医院获得性感染中,金黄色葡萄球菌是最为常见的革兰氏阳性菌属致病菌。金黄色葡萄球菌具有较高的感染率和较强的致病性,其耐药性变化较快,这些特点成为临床治疗金黄色葡萄球菌的一大难题。金黄色葡萄球菌中危害最大的是耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* MRSA)。自 1961 年发现 MRSA 以来,MRSA 以惊人的速度在世界范围蔓延,该类菌株不仅能耐受 β -内酰胺类药物,还能在一定程度上耐受四环素和红霉素等抗生素^[4],其耐药性与抗生素的应用剂量呈正相关,尚无有效遏制这一趋势的药物^[5]。临床上将万古霉素作为一线抗 MRSA 感染的药物。由于万古霉素有较大的毒性,部分金黄色葡萄球菌出现了中度耐受甚至完全耐受万古霉素的现象^[6],万古霉素的使用受到了一定的限制。

檀香醇是一种萜类化合物,是檀香精油的主要成分之一,可在一定程度上预防细菌感染,杀灭病毒等。研究^[7]显示,檀香醇还能有效抑制细菌感染、减缓细胞氧化、抑制肿瘤。笔者前期研究发现檀香醇对耐药性金黄色葡萄球菌具有一定的抑制作用,但其作用机制尚未明确。本研究中,以 MRSA 标准菌株 USA300 为研究对象,研究檀香醇对细菌生长、细菌细胞膜和细胞壁及细菌形态变化的影响,探究其具体作用及机制,旨在为后续开发高效低毒的抗 MRSA 药物提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

MRSA 标准菌株 USA300(ATCC[®] BAA-1717)购自美国标准菌种库,由四川农业大学兽医药理学实验室保存。檀香醇(α -和 β -同分异构体的混合物)购自成都普利斯生物有限公司,用 DMSO(Sigma-Aldrich, 美国)溶解,配置成 40.96 mg/mL 的檀香醇母液。磷酸缓冲盐粉剂(1 \times PBS, 无钙镁, pH=7.0)购自北京万佳首化生物科技有限公司。脑心浸出液肉汤、脑心浸出液琼脂购自上海古朵生物科技有限公司。BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司。

1.2 檀香醇对 USA300 的最小抑菌浓度和最小杀菌浓度及 USA300 生长曲线的测定

采用倍比稀释法测定檀香醇对 USA300 的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。以 MIC 数据为参考,从各澄清的试管中移取 100 μL 液体,均匀涂布于脑心浸出液琼脂上,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱静置培养 24 h,取少于 5 个菌落的平板对应的檀香醇药液质量浓度定义为最小杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC)^[8]。试验重复 3 次。

将 USA300 接种于脑心浸出液肉汤(BHI)液体培养基中,按照 1 : 100 的体积比加入 BHI 液体培养基稀释菌液;置于气浴恒温振荡器中培养(37 $^{\circ}\text{C}$, 200 r/min),直至菌液 $A_{600\text{ nm}}=0.3$,加入檀香醇,使其终质量浓度为 0、2、4、8、16、32、64 $\mu\text{g/mL}$;置于气浴恒温振荡器中继续培养,培养至 0、1、2、4、6、8、16、24 h 时,于 600 nm 波长测定菌液的

吸光度值($A_{600\text{ nm}}$), 绘制生长曲线^[9]。

1.3 USA300 菌液电导率的测定

通过测定 USA300 菌液在加入了檀香醇后的电导率, 分析檀香醇对 USA300 细胞膜通透性的影响。将培养至对数期的 USA300 菌液($A_{600\text{ nm}}=1.8$) 以 2% 的接种量接种于 TSB 培养基, 置于气浴恒温振荡器中, 37 °C、200 r/min 培养 16 h 后, 加入檀香醇药液, 使其终质量浓度为 16、32、64 $\mu\text{g/mL}$; 于 37 °C 恒温培养箱静置培养 0、1、2、4、6、8 h 后, 分别移取 5 mL 菌悬液, 4 500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 用 5% 葡萄糖溶液稀释 40 倍后测定电导率^[10]。用 DMSO 等体积替换上述试验中的檀香醇药液, 其他试验条件不变, 设为对照组。试验重复 3 次, 结果取平均值。

1.4 USA300 的 DNA 外渗量的测定

通过测定檀香醇对菌体细胞的 DNA 外渗量, 间接分析檀香醇对 USA300 细胞膜通透性的影响。向培养至对数期的 USA300 菌液($A_{600\text{ nm}}=1.8$) 中加入适量 PBS 缓冲液洗涤, 重复 2 次, 制备成浓度为 10^7 cfu/mL 的菌悬液^[11]; 加入檀香醇, 使其终质量浓度为 16、32、64 $\mu\text{g/mL}$; 于 37 °C 恒温培养箱中静置培养 0、1、2、4、6、8 h 后, 4 500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 用微量分光光度计测定 DNA 质量浓度^[12]。用 DMSO 等体积替换上述试验中的檀香醇药液, 其他试验条件不变, 设为对照组。试验重复 3 次, 结果取平均值。

1.5 USA300 可溶性蛋白质含量的测定

参照 YUAN 等^[13]的研究方法, 采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒和 SDS-PAGE 试验, 测定加入终质量浓度为 16、32、64 $\mu\text{g/mL}$ 的檀香醇处理 2、6 h 后的菌体内可溶性蛋白质含量。用 DMSO 等体积替换上述试验中的檀香醇药液, 保持其他试验条件不变, 设为对照组。试验重复 3 次, 结果取平均值。

1.6 USA300 形态结构的观察

参照薛东芳^[14]的研究方法, 向 USA300 菌液($A_{600\text{ nm}}=1.8$) 中加入檀香醇, 使其终质量浓度为 64

$\mu\text{g/mL}$, 培养至 1、10、16 h 时收集菌体。菌体中加入 PBS 缓冲液, 洗涤 3 次, 按照透射电镜(TEM)和扫描电镜(SEM)样品制备方法^[15-16]制成电镜样品。参照文献[17]的方法, 观察 USA300 菌体细胞的形态结构。用 DMSO 等体积替换上述试验中的檀香醇药液, 保持其他条件不变, 设为对照组。试验重复 3 次, 取其中变化最明显的一次作为结果。

1.7 USA300 生物被膜总量的测定

亚抑菌浓度为小于 MIC 的药物浓度^[18]。通过测定经亚抑菌浓度的檀香醇作用的 USA300 生物被膜总量, 分析亚抑菌浓度的檀香醇对 USA300 生物被膜形成的影响。将 USA300 菌株接种于 BHI 液体培养基, 于 37 °C 恒温培养箱静置培养 16 h 后, 分别加入到含檀香醇 2、4、8、16 $\mu\text{g/mL}$ 的 BHI 液体培养基中, 于气浴恒温振荡器中培养(37 °C, 200 r/min)至 $A_{600\text{ nm}}=0.6$; 从各 BHI 液体培养基中移取 10 μL 菌液于 96 孔板中, 加入含 3% 蔗糖的 BHI 培养基 290 μL , 加入檀香醇, 使檀香醇终质量浓度仍为 2、4、8、16 $\mu\text{g/mL}$, 37 °C 厌氧静置培养 18 h 后, 移取质量分数为 10% 的甲醛溶液 100 μL 至平板中, 固定生物膜, 室温过夜, 移除甲醛溶液; 加入质量分数为 0.1% 的结晶紫溶液 100 μL , 室温下染色 0.5 h 后, 除去结晶紫溶液, 加入双蒸水进行漂洗, 晾干; 加入质量分数为 33% 的乙酸 200 μL 至 96 孔板内, 反复吹吸孔内液体, 使生物膜在孔内均匀分布; 最后, 将 96 孔板置于酶标仪下 490 nm 波长测量其吸光度值($A_{490\text{ nm}}$)^[19]。用 DMSO 等体积替换上述试验中的檀香醇药液, 其他试验条件不变, 设为对照组。试验重复 3 次, 结果取平均值。

1.8 数据处理

运用 Prism 7.0 进行数据分析; 组间两两比较采用 *t* 检验法。

2 结果与分析

2.1 檀香醇对 USA300 在 BHI 液体培养基中生长的影响

檀香醇对 USA300 的 MIC 与 MBC 分别为 32、64 $\mu\text{g/mL}$ 。从图 1 可知, USA300 在檀香醇质量

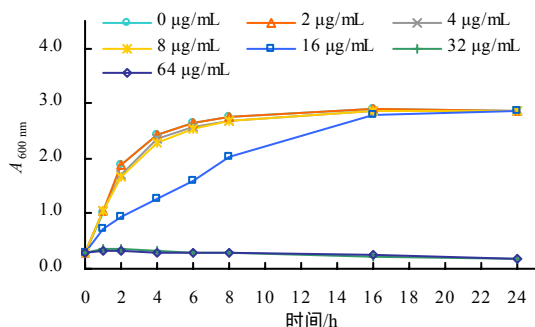


图 1 USA300 在添加了檀香醇的 BHI 液体培养基中的生长曲线

Fig.1 The growth curve of USA300 in BHI liquid medium with santalol

浓度为 32、64 $\mu\text{g/mL}$ 时,生长受到抑制;檀香醇质量浓度为 16 $\mu\text{g/mL}$ 时,USA300 生长受到一定影响;檀香醇质量浓度为 2、4、8 $\mu\text{g/mL}$ 时,USA300 的生长无明显变化。

2.2 檀香醇对 USA300 菌液电导率的影响

如表 1 所示,整体电导率变化不明显,加入檀香醇后,细菌菌液电导率呈现出小幅度的增加,但随着培养时间的延长,差异逐渐缩小;与对照组相比,差异最大的是培养时间为 1 h 时,质量浓度为 64 $\mu\text{g/mL}$ 檀香醇组的电导率增加 $3.40\% \pm 0.54\%$ 。可见,檀香醇对细菌细胞膜的通透性影响不明显。

表 1 添加檀香醇后 USA300 菌液电导率

Table 1 Electrical conductivity of USA300 bacteria solution after adding santalol

檀香醇质量浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	电导率/ $(\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1})$					
	0 h	1 h	2 h	3 h	4 h	6 h
0	479.00 \pm 12.17	480.67 \pm 8.08	478.00 \pm 10.39	479.67 \pm 11.93	490.33 \pm 4.16	507.33 \pm 11.37
16	476.33 \pm 17.62	481.67 \pm 12.74	481.00 \pm 13.89	488.67 \pm 8.39	500.67 \pm 9.29	509.67 \pm 13.58
32	477.33 \pm 16.07	493.00 \pm 14.80	483.67 \pm 10.12	487.67 \pm 11.37	503.00 \pm 8.72	514.33 \pm 11.24
64	480.67 \pm 11.15	497.00 \pm 7.81	490.00 \pm 1.00	493.00 \pm 2.00	501.67 \pm 8.50	515.67 \pm 0.58

2.3 檀香醇对 USA300 DNA 外渗量的影响

如表 2 所示,与对照组相比,64、32 $\mu\text{g/mL}$ 檀香醇作用于菌体 6 h 后,菌体细胞内的 DNA 质量浓

度显著增加 ($P < 0.05$), 分别增加 (3.17 ± 1.07) 、 (1.94 ± 0.32) $\mu\text{g/mL}$ 。可见,檀香醇对 USA300 的 DNA 外渗量有一定影响。

表 2 添加檀香醇后 USA300 的 DNA 外渗量

Table 2 DNA exosmosis of USA300 after adding santalol

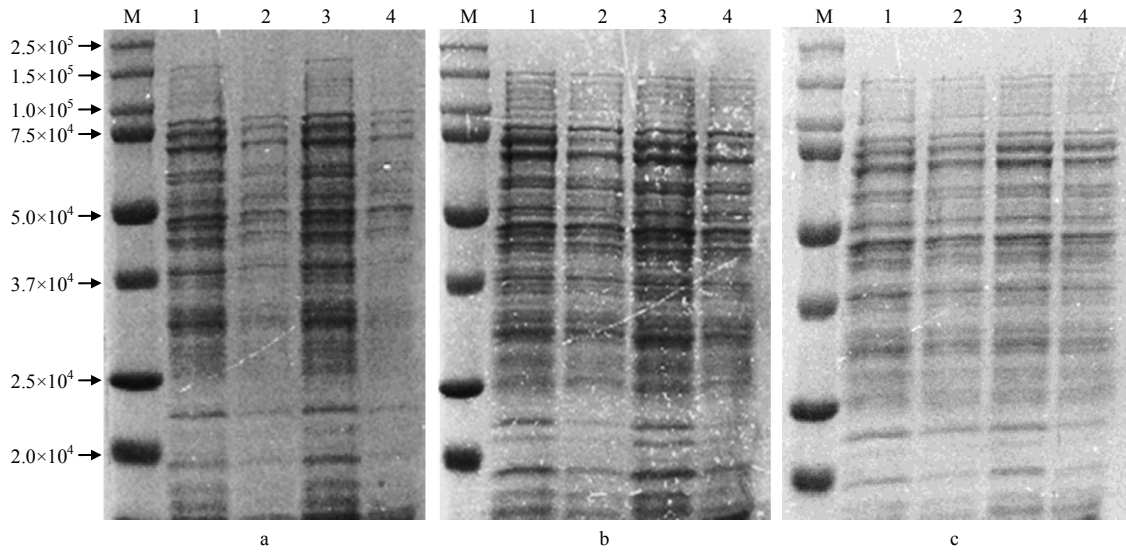
檀香醇质量浓度	DNA 质量浓度 $\mu\text{g/mL}$				
	0 h	1 h	2 h	4 h	6 h
0	1.37 \pm 0.21	1.83 \pm 0.15	2.30 \pm 0.26	2.27 \pm 0.11	2.03 \pm 0.11
16	0.83 \pm 0.55	2.73 \pm 0.42	3.03 \pm 0.06	2.17 \pm 0.15	2.87 \pm 0.23
32	1.13 \pm 0.45	2.87 \pm 0.21	2.80 \pm 0.06	3.97 \pm 0.63	(3.97 \pm 0.38)*
64	1.07 \pm 0.21	3.03 \pm 0.11	4.23 \pm 0.49	4.73 \pm 1.18	(5.20 \pm 0.95)*

“*”示与对照组相比差异显著 ($P < 0.05$)。

2.4 檀香醇对 USA300 可溶性蛋白质含量的影响

如图 2 所示,檀香醇对多个可溶性蛋白的代谢过程造成影响。与对照组相比,经 64、32、16 $\mu\text{g/mL}$ 檀香醇处理 2、6 h 后,处理组的菌体可溶性蛋白均极显著降低 ($P < 0.01$), 分别降低 $17.08\% \pm 0.23\%$ 、

$26.95\% \pm 0.15\%$, $15.74\% \pm 0.14\%$ 、 $26.79\% \pm 0.18\%$, $13.49\% \pm 0.22\%$ 、 $14.78\% \pm 0.17\%$ 。可见,檀香醇对 USA300 菌体内的可溶性蛋白的代谢过程有显著影响。



M 标准分子量蛋白; 1 2 h 对照组; 2 2 h 处理组; 3 6 h 对照组; 4 6 h 处理组。a、b、c 分别示 64、32、16 μg/mL 檀香醇处理后的 USA300 可溶性蛋白的含量。

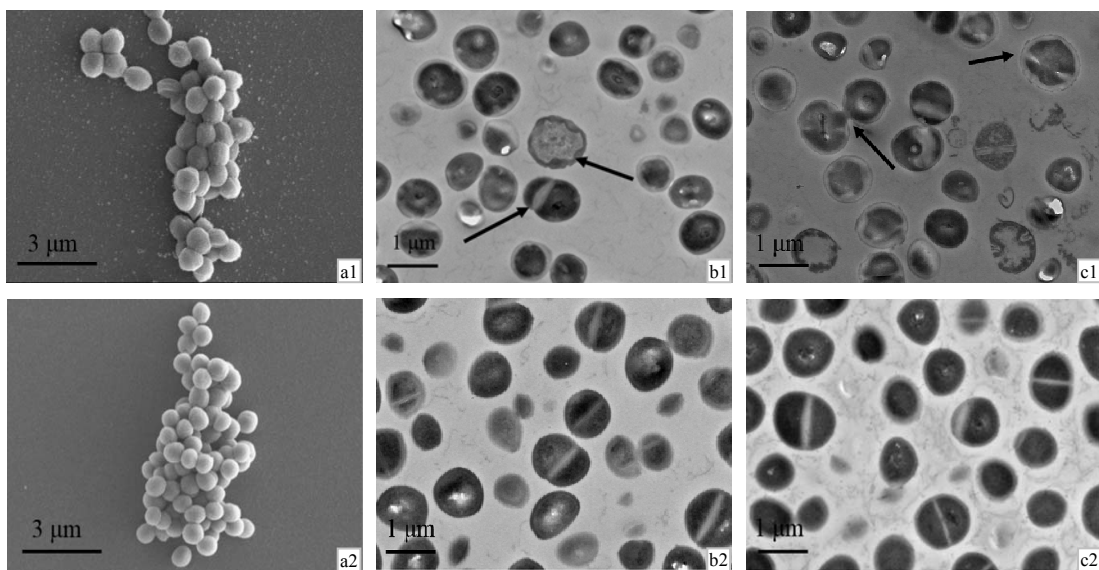
图 2 添加檀香醇后 USA300 可溶性蛋白的含量

Fig.2 The contents of USA300 soluble protein after adding santalol

2.5 檀香醇对 USA300 形态结构的影响

64 μg/mL 檀香醇作用于 USA300 1 h 后, 菌体表面细胞膜无明显皱缩变形(图 3-a1); 1 h 对照组的细胞膜、细胞壁形状饱满, 表观形态正常(图 3-a2); 64 μg/mL 檀香醇处理 10 h 后, 细菌菌体细胞膜与细胞壁未呈现出明显的损伤变形现象, 但菌体在进行二分裂时却出现了异常, 不均等分裂替代了原先的均等分裂, 分裂时物质分配出现不平衡(图 3-b1);

10 h 的对照组中的菌体具有较为完整的细胞结构, 呈现正常的均等分裂, 出现了清晰的分裂缢痕(图 3-b2); 64 μg/mL 檀香醇处理 16 h 后, 菌体二分裂异常更加明显, 而细胞膜结构无明显变化(图 3-c1); 16 h 对照组的菌体二分裂正常, 细胞膜完整, 具有清晰的二分裂期分裂缢痕(图 3-c2)。可见, 檀香醇不能对 USA300 的细胞膜或细胞壁结构造成明显的破坏, 但可以破坏细菌的分裂繁殖。



a1 1 h 檀香醇处理组; a2 1 h 对照组; b1 10 h 檀香醇处理组; b2 10 h 对照组; c1 16 h 檀香醇处理组; c2 16 h 对照组。

图 3 添加檀香醇后 USA300 菌体细胞的形态结构

Fig.3 Morphology and structure of USA300 cells after adding santalol using SEM and TEM

2.6 檀香醇亚抑菌浓度对 USA300 生物被膜形成的影响

对照组和 16、8、4、2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 檀香醇处理组的 $A_{490\text{ nm}}$ 分别为 1.33 ± 0.18 、 0.79 ± 0.08 、 0.92 ± 0.13 、 0.98 ± 0.15 、 0.97 ± 0.08 ，对照组吸光度值极显著高于其他组的($P<0.01$)；经 16、8、4、2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 檀香醇处理后，USA300 生物被膜总量比对照组分别减少 $40.60\%\pm 10.25\%$ 、 $30.83\%\pm 7.75\%$ 、 $26.32\%\pm 8.12\%$ 、 $27.07\%\pm 10.75\%$ 。可见，檀香醇对 USA300 生物被膜的形成呈现出显著的抑制作用。当檀香醇质量浓度为 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时，其抑制作用最为明显。

3 结论与讨论

本研究中，MIC、MBC 的结果显示，檀香醇能明显抑制并杀灭 USA300，表明檀香醇可应用于抗 MRSA 感染药物的开发。

细胞膜作为保障细胞内环境稳态、维持正常代谢活动的屏障结构，其被破坏后往往会给菌体的生命活动造成很大障碍^[20]。本研究中，檀香醇对 USA300 菌液的电导率影响不明显，说明其对细菌的细胞膜的影响较小。DNA 外渗量可间接地反映细胞膜、细胞壁的破损情况^[21]。本研究中，64、32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 檀香醇作用于菌体 6 h 后，菌体细胞内的 DNA 质量浓度较对照组的显著增加($P<0.05$)，这可能是由于檀香醇在一定程度上影响了细菌细胞膜的通透性。采用扫描电镜和透射电镜对细胞形态进行观察，发现细菌的细胞膜、细胞壁无萎缩变形等明显的变化，但细菌增殖出现异常的不均等分裂，这说明檀香醇可破坏细菌二分裂的增殖，而对细菌细胞膜、细胞壁几乎没有影响。这可能是因为檀香醇干扰了细菌增殖所需要的酶或蛋白，从而导致细菌二分裂无法正常完成，其具体的作用机制还有待进一步的研究。

可溶性蛋白作为关键的营养物质，可以调节细胞渗透，增强细胞的保水能力，有效保护细胞的生物膜^[22]。本研究中，经 64、32、16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 檀香醇处理过的细菌菌体，可溶性蛋白总量较正常细胞极显著降低($P<0.01$)，这说明檀香醇能有效抑制细菌可溶性蛋白的新陈代谢，破坏细菌的生命活动。生物被膜是细菌细胞外聚合物包裹形成的聚合体，可减弱细菌对抗菌药物的敏感性^[21]，是 MRSA 对医

疗器械进行感染的主要毒力因子^[23]。本研究中，亚抑菌浓度的檀香醇显著抑制 MRSA 生物被膜的形成，说明檀香醇可降低 MRSA 的黏附能力并增强 MRSA 对抗生素的敏感性，具有开发为抗毒力因子药物的潜能。

冬凌草甲素^[13]、百里香酚^[24]、松萝酸^[18]等主要是通过抑制和破坏细菌的细胞膜、细胞壁来达到杀灭和抑制细菌。与上述传统中药单体相比，檀香醇能明显破坏 MRSA 菌体蛋白质的新陈代谢和生长繁殖，而对菌体的细胞膜、细胞壁结构影响甚微，表明在新型抗毒力因子药物开发过程中檀香醇具有较大的潜力。

参考文献：

- [1] JANS C, MERZ A, JOHLER S, et al. East and West African milk products are reservoirs for human and livestock-associated *Staphylococcus aureus*[J]. Food Microbiology, 2017, 65: 64–73.
- [2] 王小兵, 周雄英. 金黄色葡萄球菌感染现状分析[J]. 医学检验与临床, 2013, 24(5): 40–42.
WANG X B, ZHOU X Y. Infection present situation analysis of *Staphylococcus aureus*[J]. Medical Laboratory Science and Clinics, 2013, 24(5): 40–42.
- [3] 周志英, 吴旭琴. 我院 2007—2010 年临床分离的金黄色葡萄球菌耐药性分析[J]. 南通大学学报(医学版), 2011, 31(4): 288–289.
ZHOU Z Y, WU X Q. Analysis of drug resistance of *Staphylococcus aureus* isolated in our hospital from 2007 to 2010[J]. Journal of Nantong University(Medical Sciences), 2011, 31(4): 288–289.
- [4] 张贤芝, 冯石献. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染现状及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(8): 2072–2073.
ZHANG X Z, FENG S X. The present situation of MRSA infection and drug resistance analysis[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2011, 21(8): 2072–2073.
- [5] WUNDERINK R G. How important is methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a cause of community-acquired pneumonia and what is best antimicrobial therapy?[J]. Infectious Disease Clinics of North America, 2013, 27(1): 177–188.
- [6] 李苏娟. 金黄色葡萄球菌对利奈唑胺耐药机制及其分子基础研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
LI S J. A study of linezolid resistant mechanisms and their molecular basis in *Staphylococcus aureus*[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015.
- [7] 王雨辰, 文孟良, 李铭刚, 等. 檀香烯与檀香醇生物

- 合成研究进展[J]. 生物工程学报, 2018, 34(6): 862-875.
WANG Y C, WEN M L, LI M G, et al. Progress in biosynthesis of santalene and santalol[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2018, 34(6): 862-875.
- [8] 宋燕. 金黄色葡萄球菌的分子特征分析及其对莫匹罗星的耐药机制研究[D]. 上海: 复旦大学, 2013.
SONG Y. Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* and its resistance to mupirocin[D]. Shanghai: Fudan University, 2013.
- [9] 袁中伟, 吴秦慧美, 邓嘉强, 等. 毛兰素缓解金黄色葡萄球菌腹膜炎的作用机制[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2018, 44(5): 553-558.
YUAN Z W, WU Q H M, DENG J Q, et al. The mechanism of erianin relieving peritonitis caused by *Staphylococcus aureus*[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2018, 44(5): 553-558.
- [10] 王海涛. 大豆异黄酮的抑菌活性及其机制的研究[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2009.
WANG H T. Anti-microorganism activity and anti-microbial mechanism of soybean isoflavone[D]. Dalian, China: Liaoning Normal University, 2009.
- [11] 游轶博. 金黄色葡萄球菌生物被膜和纤维蛋白原结合能力研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2014.
YOU Y B. Biofilm formation and fibrinogen binding ability of *Staphylococcus aureus*[D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2014.
- [12] CHEN C Z, COOPER S L. Interactions between dendrimer biocides and bacterial membranes[J]. Biomaterials, 2002, 23(16): 3359-3368.
- [13] YUAN Z W, OUPANGY P, GU K X, et al. The antibacterial mechanism of oridonin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA)[J]. Pharmaceutical Biology, 2019, 57(1): 710-716.
- [14] 薛东芳. 黄连生物碱及 8-烷基小檗碱衍生物对嗜水气单胞菌抑菌机制的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2015.
XUE D F. Antibacterial mechanism of alkaloids from rhizoma coptidis and 8-alkylberberine derivatives against *Aeromonas hydrophila*[D]. Chongqing: Southwest University, 2015.
- [15] 方展强, 邱玫, 王春风. 剑尾鱼鳃结构的光镜、扫描和透射电镜观察[J]. 电子显微学报, 2004, 23(5): 553-559.
FANG Z Q, QIU M, WANG C F. Light, scanning and transmission electron microscopical observation of the gill structure of swordtail *Xiphophorus helleri*[J]. Journal of Chinese Electron Microscopy Society, 2004, 23(5): 553-559.
- [16] 方克明, 邹兴, 苏继灵. 纳米材料的透射电镜表征[J]. 现代科学仪器, 2003(2): 15-17.
FANG K M, ZOU X, SU J L. The characterization of nano-materials by transmission electron microscope [J]. Modern Scientific Instruments, 2003(2): 15-17.
- [17] 陈晓青. 金黄色葡萄球菌耐药性及 ϵ -PL 对其生物膜形成的影响[D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2018.
CHEN X Q. Drug resistance of *Staphylococcus aureus* and the effect of ϵ -PL on biofilm formation[D]. Lanzhou: Gansu University of Chinese Medicine, 2018.
- [18] 袁中伟, 谷可欣, 张天翼, 等. 松萝酸对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抑菌作用机制研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2019, 54(4): 22-29.
YUAN Z W, GU K X, ZHANG T Y, et al. Antibacterial mechanism of usnic acid on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2019, 54(4): 22-29.
- [19] ZHANG B, TENG Z, LI X, et al. Chalcone attenuates *Staphylococcus aureus* virulence by targeting sortase A and alpha-hemolysin[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1715.
- [20] 胡静, 赵小慧, 朱春玉, 等. 槐糖脂对金黄色葡萄球菌的抑菌机理[J]. 食品科学, 2012, 33(5): 33-36.
HU J, ZHAO X H, ZHU C Y, et al. Inhibitory effect and mechanisms of sophorolipids against *Staphylococcus aureus*[J]. Food Science, 2012, 33(5): 33-36.
- [21] 盛清. 细菌生物膜[J]. 国外医学(流行病学传染病学分册), 2003, 30(4): 241-243.
SHENG Q. Bacterial biofilm[J]. Foreign Medical Sciences Epidemiology Lemology Fascicle, 2003, 30(4): 241-243.
- [22] 周正富. 耐辐射异常球菌转录调节蛋白 IrrE 增强大肠杆菌盐胁迫抗性的全局调控机制[D]. 北京: 中国农业科学院, 2011.
ZHOU Z F. Global regulation of the enhanced salt stress resistance in *Escherichia coli* by IrrE, a transcriptional regulator of *Deinococcus radiodurans*[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2011.
- [23] YOSHII Y, OKUDA K I, YAMADA S, et al. Norgestimate inhibits staphylococcal biofilm formation and resensitizes methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to β -lactam antibiotics[J]. NPJ Biofilms and Microbiomes, 2017, 3: 18.
- [24] 袁中伟, 陈志英, 甘盈盈, 等. 百里香酚对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抑菌作用机制[J]. 华南农业大学学报, 2018, 39(6): 18-23.
YUAN Z W, CHEN Z Y, GAN Y Y, et al. Antibacterial mechanism of thymol to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. Journal of South China Agricultural University, 2018, 39(6): 18-23.