

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2021.7.11

# 抗胞内菌感染纳米药物研究进展

苏楠楠,董贵,刘金环,王梦华,尹梦丽,罗万和\*,陈伟\*

(新疆生产建设兵团塔里木动物疫病诊断与防控工程实验室/新疆生产建设兵团塔里木畜牧科技重点实验室/

塔里木大学动物科学学院,新疆阿拉尔 843300)

[收稿日期] 2021-01-13 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2021)07-0076-10 [中图分类号] S859.79

**[摘要]** 纳米技术所制备的纳米抗菌药物可有效改善药物胞内转运能力,为提高胞内菌感染的治疗提供新的策略。通过总结常见兼性或专性胞内菌的感染以及纳米抗菌药物治疗胞内菌感染的现状,讨论并分析纳米抗菌药物在兽医临床上治疗胞内菌感染所面临的挑战,并对纳米抗菌药物治疗胞内感染性疾病的应用前景进行展望。

**[关键词]** 胞内菌;纳米抗菌药物;纳米技术

## Advances on Nano-antibacterial Agents against Intracellular Bacterial Infection

SU Nan-nan, DONG Gui, LIU Jin-huan, WANG Meng-hua,

YIN Meng-li, LUO Wan-he\*, CHEN Wei\*,

(Engineering Laboratory for Tarim Animal Diseases Diagnosis and Control/Key Laboratory of Tarim Animal Husbandry &amp; Science Technology of Xinjiang Production &amp; Construction Corps/College of Animal Sciences, Tarim University, Alar, Xinjiang 843300, China)

Corresponding authors: LUO Wan-he, E-mail: 315935220@qq.com; CHEN Wei, E-mail: 379497687@qq.com

**Abstract:** Nano-antibacterial agents prepared by nanotechnology could effectively improve the intracellular delivery, and provide a new strategy for improving the treatment of intracellular bacterial infection. In this paper, the infections of common facultative or specific intracellular bacteria and the current situation of nano-antibacterial agents in the treatment of intracellular infections were summarized, and the challenges of nano-antibacterial agents in the treatment of intracellular infections in veterinary clinic were discussed and analyzed, and the prospect of nano-antibacterial agents in the treatment of intracellular infections was put forward.

**Key words:** intracellular bacteria; nano-antibacterial agents; nanotechnology

基金项目: 塔里木畜牧科技兵团重点实验室开放课题(HS202108);新疆生产建设兵团中青年科技创新领军人才项目(2019CB029)

作者简介: 苏楠楠,本科,从事纳米载药系统研究。

通讯作者: 罗万和, E-mail: 315935220@qq.com; 陈伟, E-mail: 379497687@qq.com

兼性或专性胞内菌感染给畜牧业带来严重经济损失<sup>[1]</sup>。因胞内寄生菌可在宿主细胞中定植并长期生存,不仅能通过许多巧妙的机制抵御宿主的防御系统,而且还会随着宿主细胞的游走而在机体内扩散,导致持续性、潜在性和复发性的感染<sup>[1-2]</sup>。因此,兼性胞内菌[(金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)、沙门菌(*Salmonella*)、结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, *M. tb*)、单核细胞李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, LM)、布鲁氏菌(*Brucella*)]和专性胞内菌[胞内劳森菌(*Lawsonia intracellularis*, LI)]感染的治疗在兽医临床上面临着巨大的挑战。如由胞内 *S. aureus* 所引起的奶牛乳房炎,因常规抗菌药物难以进入宿主细胞中,导致其治愈率不高<sup>[3]</sup>。加上抗菌药物的不合理使用,已导致多重耐药(multidrug resistance, MDR)菌株的产生<sup>[3]</sup>,给奶牛乳房炎的防治工作增添了难度。因此,迫切需要新的策略来治疗胞内 *S. aureus* 的感染。

目前,设计和研发新型的抗菌药物和新的抗菌药物递送系统被认为是治疗胞内菌感染的一种有效方法<sup>[4]</sup>。但是设计和研发一种新型的抗菌药物耗时长,花费巨大,投入精力大,给科研单位和工作人员带来了一定的困难。纳米技术通过将抗菌药物制成纳米粒,经淋巴转运和炎性部位毛细血管的渗透作用输送到感染的靶部位或靶细胞,从而提高胞内药物浓度和延长有效胞内停留时间,改善抗菌药物递送系统,以此提高胞内菌感染的治疗效果<sup>[5]</sup>。

本文通过归纳和总结常见兼性或专性胞内菌的特性以及纳米抗菌药物治疗胞内菌感染的现状,讨论并分析纳米抗菌药物在治疗胞内菌感染所面临的挑战,并提出相应展望,为进一步深化纳米抗菌药物胞内转运机制研究,提高抗胞内菌感染效果提供理论基础。

1 胞内菌感染

由兼性和专性胞内菌所引起的感染,其感染机制和临床常用药物如表 1 所示。

表 1 兼性和专性胞内菌的感染机制和常用药物

Tab 1 Infection mechanism and common drugs of facultative and specific intracellular bacteria

| 病原菌名称             | 感染机制                                                              | 常用药物                   | 参考文献                                                                 |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------|------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| <i>S. aureus</i>  | 长期定植于上皮和内皮细胞内,产生细菌毒素抵御宿主免疫系统的攻击,并在细胞内分泌溶血素诱导细胞炎性因子的表达,促进炎症的产生。    | 头孢洛宁、利福昔明、硫酸头孢喹肟       | 薛梅等 <sup>[7]</sup> 、<br>马志明等 <sup>[8]</sup> 、<br>魏占勇等 <sup>[9]</sup> |
| <i>Salmonella</i> | 主要侵袭于肠粘膜淋巴上皮细胞或周围的肠上皮细胞,引发炎症。                                     | 氟苯尼考、卡那霉素、土霉素、<br>呋喃唑酮 | 刘立军等 <sup>[14]</sup>                                                 |
| <i>M. tb</i>      | 能够在吞噬细胞中活化与增殖,释放毒力因子。                                             | 以预防为主                  | 李少晗 <sup>[19]</sup> 、<br>孙娅莉 <sup>[20]</sup>                         |
| LM                | 在宿主细胞内分泌 $\alpha$ -溶血素,并介导其从吞噬体中逃逸,并在多种毒力因子的作用下,吸取宿主细胞的营养,实现增殖分化。 | 克林霉素、青霉素、四环素、<br>氯霉素   | Garedew 等 <sup>[22]</sup> 、<br>Gómez 等 <sup>[23]</sup>               |
| <i>Brucella</i>   | 在吞噬细胞和上皮细胞内大量繁殖,后随着血液的流动,并分泌多种毒力到达内脏器官,引发感染。                      | 以预防为主                  | 况宗南 <sup>[26]</sup> 、<br>成明 <sup>[27]</sup>                          |
| LI                | 主要经口液泡进入未成熟的肠上皮细胞,在细胞质中释放并繁殖,并重复感染其他易感细胞,同时导致隐窝细胞异常生长繁殖。          | 氧氟沙星、泰妙菌素              | 肖和良等 <sup>[29]</sup> 、<br>龙星 <sup>[30]</sup>                         |

*S. aureus*: 金黄色葡萄球菌; *Salmonella*: 沙门菌; *M. tb*(*Mycobacterium tuberculosis*): 结核分枝杆菌; LM(*Listeria monocytogenes*): 单核细胞李斯特菌; *Brucella*: 布鲁氏菌; LI(*Lawsonia intracellularis*): 胞内劳森菌

1.1 兼性胞内菌

1.1.1 胞内 *S. aureus* 据报道,在美国和日本,每头奶牛每年因乳房炎造成的经济损失分别高达 161

美元和 5 万日元,其中日本隐性乳房炎患牛产奶量约降 15%,而临床型乳房炎患牛的产奶量可下降 40%。我国奶牛临床型乳房炎的平均发病率为

33.14%,而隐性奶牛乳房炎的阳性率高达 73.91%。

*S. aureus* 作为一种常见的兼性胞内菌,以一种小菌落变异体 (Small Colony Variants, SCVs) 的方式,在细胞内持续存在<sup>[6]</sup>。研究表明,当 *S. aureus* 由正常状态变为 SCVs 时,更易入侵宿主细胞,在细胞内形成细菌贮源地后,可巧妙地抵御胞内防御体系<sup>[11]</sup>。且由于 SCVs 持续存在于细胞内,可能会导致长期和反复感染,且 SCVs 的出现与奶牛乳腺炎的亚临床感染和反复感染密切相关<sup>[6]</sup>。当 *S. aureus* 入侵奶牛乳房后,可粘附并定植于乳腺上皮细胞中,完全游离于细胞质中,吸取细胞质中的营养,以供自己繁殖生存<sup>[6]</sup>。

目前,在兽医临床上治疗 *S. aureus* 感染的抗菌药物有头孢洛宁、利福昔明、氨苄青霉素、硫酸头孢喹肟。其中薛梅等<sup>[7]</sup>采用头孢洛宁和利福昔明乳房注入剂治疗干乳期奶牛乳房炎,治愈率为 87.23% 和 85.29%。马志明等<sup>[8]</sup>采用氨苄青霉素治疗早期临床型乳房炎,治愈率为 43.75%。魏占勇等<sup>[9]</sup>采用硫酸头孢喹肟乳房注入剂治疗干乳期奶牛乳房炎,其治愈率为 66.7%。这些抗菌药物对治疗奶牛乳腺炎虽具有较高的治愈率,但由于细胞膜的生物屏障作用,抗菌药物难以在胞内感染靶位达到有效的治疗浓度和时间。其次抗菌药物对 *S. aureus* 毒力因子的作用欠佳,且在抗菌药物反复的刺激作用下,细菌会释放更多毒素,加重感染<sup>[10]</sup>。同时,多重耐药现象的产生也使胞内 *S. aureus* 感染的治疗面临着更大的挑战。

1.1.2 胞内 *Salmonella* 由胞内 *Salmonella* 引起的鸡白痢,可导致鸡的受精率和产蛋率下降<sup>[11]</sup>。据报道,鸡白痢在我国发病率为 20%~40%,致死率为 10%~60%<sup>[12]</sup>。同时,*Salmonella* 在食品生产中的高检出率,给食品安全和公共卫生造成了重大隐患,并引起了广泛关注。*Salmonella* 感染动物后,主要侵袭于肠粘膜淋巴上皮细胞或肠上皮细胞,引发炎症。且在毒力岛编码的 III 型分泌系统 (type three secretion system, TTSS) 的调控下,在囊泡内大量繁殖生存,以此来躲避宿主免疫系统的识别与攻击,并在宿主细胞内释放多种毒力因子,引

发严重感染<sup>[13]</sup>。目前,在兽医临床上常用氟苯尼考、卡那霉素、土霉素和呋喃唑酮等抗菌药物来治疗 *Salmonella* 感染。刘立军等<sup>[14]</sup>用氟苯尼考、卡那霉素、土霉素和呋喃唑酮等药物治疗鸡 *Salmonella* 病,其治愈率分别为 91.7%、85%、80% 和 53.3%。这些抗菌药物虽在体外对 *Salmonella* 均有一定的效果,但难以跨细胞扩散,因而在体内不能有效治疗胞内 *Salmonella* 感染。因此,在选择有效抗菌药物的基础上,急需设计和研发新型抗菌药物递送系统,提高胞内药物浓度和延长有效时间,改善纳米药物胞内转运能力,从而提高治疗胞内 *Salmonella* 感染的效果。

1.1.3 胞内 *M. tb* 由 *M. tb* 引起的结核病是世界危害最大的人兽共患传染病之一<sup>[15]</sup>。全球每年约有 5000 万的牛感染 *M. tb*,每年造成约 30 亿美元的损失<sup>[16]</sup>。*M. tb* 通过感染吞噬细胞,在胞内分泌毒力因子并抑制机体免疫机制,造成细胞内持续性感染<sup>[17]</sup>。Monika 等<sup>[18]</sup>通过 4 种药物 (链霉素、异烟肼、利福平、乙胺丁醇) 对 134 株 *M. tb* 分离菌株的药敏试验检测其敏感性,结果表明 *M. tb* 对 4 种抗菌药物均敏感。但因牛结核病的治疗费用高,且不易根治,故目前在兽医临床上对于牛结核病以预防为主<sup>[18]</sup>。李少晗等<sup>[19]</sup>所开发的新型检测奶牛结核病技术,可为防控和净化牛结核病提供帮助。孙娅莉<sup>[20]</sup>认为养殖场应坚持自繁自养的原则,落实检疫与消毒管理等防治策略,可起到净化结核病的效果。

1.1.4 胞内 LM 经口感染后的 LM 在黏附毒力因子 (内化素) 的作用下,入侵宿主肠上皮细胞,并分泌  $\alpha$ -溶血素,介导其从吞噬体中逃逸进入到宿主细胞的胞浆内。通过掠夺宿主细胞的营养物质,进行增殖分化,引起全身性感染<sup>[21]</sup>。目前,常用克林霉素、青霉素、四环素、氯霉素等抗菌药物测定其敏感性。Garedewd 等<sup>[22]</sup>从埃塞俄比亚食品中分离得到 LM 对青霉素、四环素和氯霉素的耐药率分别为 66.7%、37.5% 和 16.6%。Gómez 等<sup>[23]</sup>从西班牙肉产品中分离得到的 LM 对克林霉素和四环素分别耐药率为 35.0% 和 0.5%。由此可见,LM 对

以上抗菌药物均表现出不同程度的耐药性。

1.1.5 胞内 *Brucella* 由 *Brucella* 引起的布病是畜牧业中危害严重的疾病之一。近些年来,布病阳性率逐年升高,如羊发病率为 0.26% ~ 4.11%,牛发病率为 0.51% ~ 1.78%。同时 *Brucella* 通过污染肉和乳制品而间接性导致布病发病率为 11.5%。*Brucella* 可在吞噬细胞和上皮细胞内大量繁殖后,随着血液的流动,并分泌多种毒力因子,到达内脏器官,引发感染<sup>[24]</sup>。*Brucella* 主要通过消化道、黏膜、呼吸道等途径进入到宿主内,黏附于吞噬细胞。且 *Brucella* 细胞膜上的多糖可抑制吞噬细胞的凋亡,实现免疫逃逸,并在宿主细胞内掠夺营养大量繁殖生存,*Brucella* 所释放内毒素与多种毒力因子可引发菌血症,严重时会造成脓毒血症,致使宿主死亡。该菌也可通过感染上皮细胞,释放纤维素性脓性分泌物,导致母畜流产<sup>[25]</sup>。目前,在兽医临床上对待布病主要以预防为主,因为长时间的使用抗菌药物会增加耐药率,且治疗成本过高,会给畜牧业的发展和经济带带来一定的损失<sup>[26-27]</sup>。

1.2 专性胞内菌 作为专性胞内寄生菌的 LI 能

在猪肠道细胞内大量繁殖,引起一种以回肠和结肠隐窝内未成熟的肠上皮细胞发生腺瘤样增生为特征的猪增生性肠炎 (Porcine Proliferative Enteropathy, PPE),其感染潜伏期长,一般为 2 ~ 3 周<sup>[28]</sup>。在兽医临床上主要采用氧氟沙星、泰妙菌素等抗菌药物治疗 PPE。肖和良等<sup>[29]</sup>采用注射氧氟沙星注射液和泰妙菌素颗粒剂拌料,其治愈率为 89%。龙星<sup>[30]</sup>采用泰妙菌素治疗 PPE,其治愈率为 100%。这些抗菌药物虽抑菌效果好,但大多数药物由于问世和使用年限较长,其耐药性已非常严重,导致临床治疗效果不理想。如  $\beta$ -内酰胺类药物虽被广泛应用,但其与细胞膜的亲和力不高,难以进入细胞内,氟喹诺酮类药物虽能渗入宿主细胞内,且能达到较高的浓度,但对 LI 的敏感性不高,所以在兽医临床氟喹诺酮类药物很少用于治疗 PPE。

## 2 纳米抗菌药物治疗胞内菌感染现状

目前已有多种抗菌药物通过纳米技术,被研制成纳米抗菌药物,用来治疗胞内菌的感染,如图 1 所示。不同纳米抗菌药物抗胞内菌感染的实例如表 2 所示。

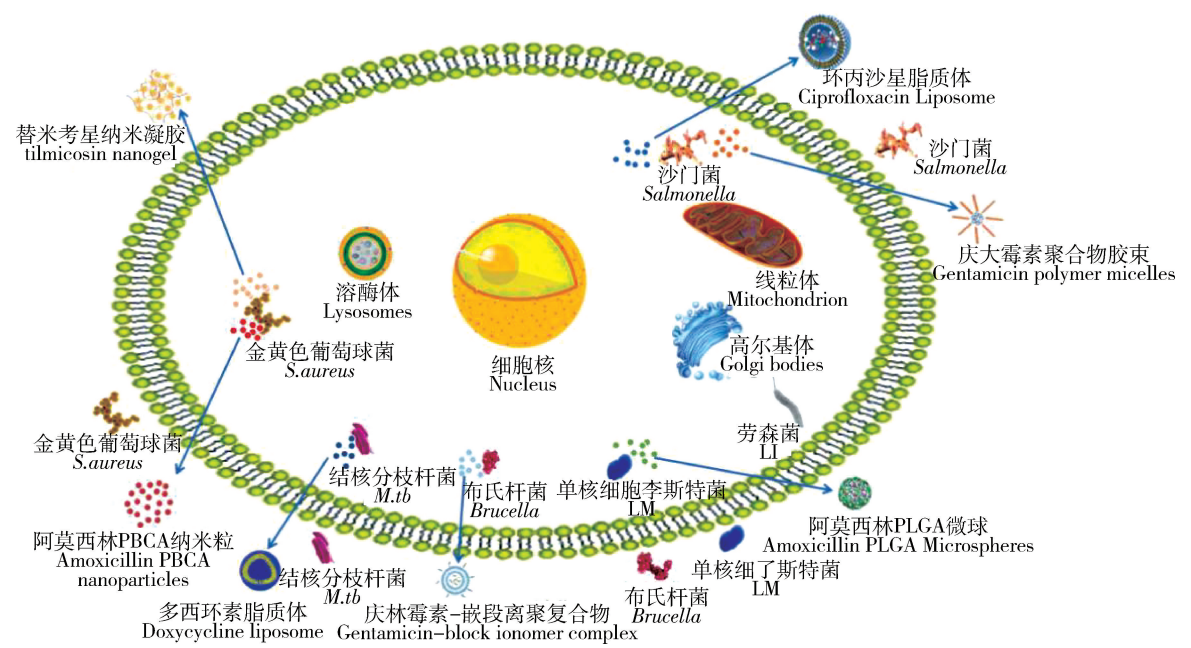


图 1 纳米抗菌药物对兼性或专性胞内菌的作用

Fig 1 Effect of nano antibacterial agents on facultative or specific intracellular bacteria



表 2 不同纳米抗菌药物抗胞内菌感染的实例

| Tab 2 The examples of different nano – antibacterial agents against intracellular infection |                   |                               |                                                                                          |                              |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| 纳米药物                                                                                        | 胞内菌               | 优势                            | 参考文献                                                                                     |                              |
| β – 内酰胺类                                                                                    | 头孢曲松钠壳聚糖硫酸盐纳米胶囊   | <i>Salmonella</i>             | 抗胞内寄生菌的效果更强                                                                              | Prakash 等 <sup>[31]</sup>    |
|                                                                                             | 头孢曲松钠壳聚糖纳米粒       | <i>Salmonella typhimurium</i> | 降低了巨噬细胞中 <i>Salmonella typhimurium</i> 的数量,提高了头孢曲松钠抗胞内 <i>Salmonella typhimurium</i> 的效果 | Zaki 等 <sup>[32]</sup>       |
| 氨基糖苷类                                                                                       | 庆大霉素-嵌段离聚复合物      | <i>Brucella</i>               | 可显著降低鼠巨噬细胞内 <i>Brucella</i> 的数量,增强庆大霉素抗菌活性。                                              | Pothayee 等 <sup>[33]</sup>   |
|                                                                                             | 庆大霉素聚乳酸 – 羟基乙酸钠微粒 | LM                            | 可提高庆大霉素在胞内的蓄积能力                                                                          | Imbuluzqueta <sup>[34]</sup> |
| 四环素类                                                                                        | 盐酸多西环素悬浮剂         | <i>Salmonella</i>             | 延长有效血药浓度和体外释放时间,增强多西环素的抑菌效果                                                              | Li 等 <sup>[36]</sup>         |
|                                                                                             | 多西环素脂质体           | <i>M. tb</i>                  | 成功靶向 J774 A. 1 巨噬细胞,且可在胞内停留 25 ~ 48 h,增强多西环素的抗菌活性。                                       | Franklin 等 <sup>[38]</sup>   |
|                                                                                             | 壳聚糖功能化 MoS2 纳米片   | <i>S. aureus</i>              | 可有效抑制细菌生物膜,抗菌效果更强                                                                        | 张旭 <sup>[37]</sup>           |
| 大环内酯类                                                                                       | 替米考星纳米凝胶          | <i>S. aureus</i>              | 降低替米考星的用量和减少治疗奶牛乳腺炎的成本                                                                   | Zhou 等 <sup>[40]</sup>       |
|                                                                                             | 替米考星脂质体纳米粒        | <i>S. aureus</i>              | 可有效降低替米考星对 <i>S. aureus</i> 的 MIC 和 MBC 值                                                | Rassouli 等 <sup>[41]</sup>   |
|                                                                                             | 克拉霉素脂质体           | <i>S. aureus</i>              | 显著降低胞内细菌的数量,提高克拉霉素的抗菌活性。                                                                 | Li 等 <sup>[42]</sup>         |
|                                                                                             | 恩诺沙星 SLNs         | <i>Salmonella</i>             | 胞内蓄积能力显著提高,延长了抑菌时间,提高了的抗菌效果                                                              | Xie 等 <sup>[43]</sup>        |
|                                                                                             | 复方恩诺沙星纳米乳         | <i>S. aureus</i>              | 经皮肤给药后,成功靶向感染细胞,发挥更强的抗菌活性                                                                | 王波臻等 <sup>[45]</sup>         |
|                                                                                             | 托氟沙星纳米乳           | <i>S. aureus</i>              | 解决托氟沙星难溶于水的问题,增强其抗菌活性                                                                    | 高娴 <sup>[44]</sup>           |
|                                                                                             | 克拉唑银固体脂质粒         | <i>S. aureus</i>              | 延长了克拉唑银对 <i>S. aureus</i> 的有效抑菌时间,从而提高了其对 <i>S. aureus</i> 的治疗效果                         | Kalhasure <sup>[46]</sup>    |
| 其他                                                                                          | 盐酸万古霉素固体脂质纳米粒     | <i>S. aureus</i>              | 延长了盐酸万古霉素对 <i>S. aureus</i> 的有效抑菌时间,从而提高了其对 <i>S. aureus</i> 的治疗效果                       | Kalhasure <sup>[46]</sup>    |
|                                                                                             | 利福平固体脂质体纳米粒       | <i>S. aureus</i>              | 将利福平成功释放于胞内,且显著减少 <i>S. aureus</i> 的生物被膜的形成,从而有效降低细菌的致病力                                 | Bibi 等 <sup>[47]</sup>       |
|                                                                                             | 达托霉固体脂质体纳米粒       | <i>S. aureus</i>              | 提高了达托霉素对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抗菌活性                                                                | Li 等 <sup>[48]</sup>         |
|                                                                                             | 克拉霉素固体脂质体纳米粒      | <i>S. aureus</i>              | 提高了克拉霉素对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抗菌活性                                                                | Li 等 <sup>[48]</sup>         |

*Salmonella*: 沙门菌; *Salmonella typhimurium*: 鼠伤寒沙门菌; *Brucella*: 布鲁氏菌; LM (*Listeria monocytogenes*): 单核细胞李斯特菌; *M. tb* (*Mycobacterium tuberculosis*): 结核分枝杆菌; *S. aureus*: 金黄色葡萄球菌

2.1 β – 内酰胺类 作为许多细菌感染首选药物之一的 β – 内酰胺类药物,已有头孢曲松钠壳聚糖硫酸盐纳米胶囊、头孢曲松钠壳聚糖纳米粒等纳米药物被报道。其中 Prakash 等<sup>[31]</sup>制备的头孢曲松钠壳聚糖硫酸盐纳米胶囊被用来治疗胞内 *Salmonella* 的感染,将壳聚糖硫酸盐作为聚合物载药体

时,头孢曲松钠壳聚糖硫酸盐纳米胶囊相比游离药物以更低的剂量有效地杀灭 *Salmonella*。Zaki 等<sup>[32]</sup>所制备的头孢曲松钠壳聚糖纳米粒,相比游离药物可显著降低巨噬细胞中鼠伤寒沙门菌的数量,提高头孢曲松抗胞内 *Salmonella* 的效果。以上 β – 内酰胺类纳米抗菌药物虽具有改善胞内抗生素

递送能力,但难以完全根除胞内细菌的数量,且还存在载药量、稳定性、聚合物的降解性和粒径大小等诸多问题<sup>[32]</sup>。

**2.2 氨基糖苷类** 具有广谱抗菌的氨基糖苷类抗菌药物,已有庆大霉素-嵌段离聚复合物、庆大霉素聚乳酸-羟基乙酸等氨基糖苷类纳米抗菌药物被报道。Pothayee 等<sup>[33]</sup>制备的庆大霉素-嵌段离聚复合物被用来治疗胞内 *Brucella* 的感染,该纳米药物由聚醚-聚丙烯酸酯共聚物与庆大霉素类结合,形成直径为 170 ~ 340 nm 的嵌段离聚复合物。庆大霉素-嵌段离聚复合物递送系统可显著降低鼠巨噬细胞内 *Brucella* 的数量,增强庆大霉素抗菌活性。Imbuluzqueta<sup>[34]</sup>所制备的庆大霉素聚乳酸-羟基乙酸可提高庆大霉素在胞内的蓄积能力,从而提高了其抗胞内 *LM* 感染的活性。以上氨基糖苷类纳米药物虽证明了它们的能力,即改善细胞外和体内抗生素递送的能力,具有很好的稳定性和药物有效载荷,但和  $\beta$ -内酰胺类纳米药物一样,难以完全根除胞内菌数量<sup>[35]</sup>。且由于氨基糖苷类药物极性较高,穿透细胞膜的速率非常缓慢,即使进入细胞内部,也几乎只保留在溶酶体中,而在溶酶体内的氨基糖苷类药物活性会因溶酶体的低 pH 值而降低,因此在临床上难以达到理想的治疗效果。

**2.3 四环素类** 目前已有盐酸多西环素悬浮剂、负载四环素的壳聚糖功能化 MoS<sub>2</sub> 纳米片、多西环素脂质体等四环素类纳米抗菌药物被报道。Li 等<sup>[36]</sup>制备的盐酸多西环素悬浮剂以 0.15  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的浓度可维持在胞内 72 h 以上,延长了盐酸多西环素的有效浓度和体外释放时间,且消除半衰期增加到 9.77 h、平均停留时间增加到 18.81 h,生物利用度提高了 1.74 倍。张旭<sup>[37]</sup>制备的壳聚糖功能化 MoS<sub>2</sub> 纳米片可有效抑制 *S. aureus* 生物膜的形成并破坏已建立的生物膜,且其最小抑菌浓度比四环素下降数十倍,增强了四环素对于胞内 *S. aureus* 和胞内 *Salmonella* 的抗菌活性。Franklin 等<sup>[38]</sup>制备的多西环素脂质体被用来治疗胞内 *M. tb* 的感染,利用硫酸负载的方法制备多西环素脂质体,该药物递送系统可成功靶向巨噬细胞,且可以在胞内停留

25 ~ 48 h,增强了多西环素的抗菌活性。以上四环素类纳米药物虽能够有较好的抑菌效果,但需频繁给药,费用高,且四环素类药物由于细胞膜穿透能力差,导致胞内药物浓度达不到抑菌水平,还易诱导细菌耐药<sup>[39]</sup>。

**2.4 大环内酯类** 目前已有替米考星纳米凝胶、替米考星脂质体纳米粒、替米考星-脂质核纳米胶囊、克拉霉素脂质体等大环内酯类纳米抗菌药物被报道。Zhou 等<sup>[40]</sup>制备的替米考星纳米凝胶被用来治疗胞内 *S. aureus* 的感染,采用固体脂质纳米技术与水凝胶技术相结合制备替米考星纳米凝胶,可显著降低替米考星用量和治疗奶牛乳腺炎成本。Rassouli 等<sup>[41]</sup>制备的替米考星纳米结构脂质载体和替米考星-脂质核纳米胶囊相对于对照组替米考星,可有效降低替米考星对 *S. aureus* 的最小抑菌浓度和最小杀菌浓度。Li 等<sup>[42]</sup>制备的克拉霉素脂质体被用来治疗胞内 *S. aureus* 的感染,利用脂质体改善克拉霉素的抗菌活性,可显著降低胞内 *S. aureus* 载量。以上大环内酯类纳米药物虽有较好的抗菌效果,利用脂质体纳米技术来改善抗菌药物的活性,与传统药物相比,具有低毒、减少给药频率的优势,但也存在药物滞留率低(3% ~ 8%)、稳定性低、载药量少、容易被氧化和水解等问题<sup>[33]</sup>。且大环内酯类药物在胞内蓄积性能较弱和胞内酸性条件下活性较差,达不到理想治疗效果。

**2.5 氟喹诺酮类** 目前已有恩诺沙星固体脂质体纳米粒、托氟沙星纳米乳、复方恩诺沙星纳米乳等氟喹诺酮类纳米药物被报道。其中 Xie 等<sup>[43]</sup>制备的恩诺沙星固体脂质体纳米粒被用来治疗胞内 *Salmonella* 的感染,利用固体脂质体纳米技术改善恩诺沙星的抗菌活性,且恩诺沙星固体脂质体纳米粒是游离药物胞内蓄积能力的 27.06 ~ 37.71 倍,延长了恩诺沙星的抑菌时间,提高了恩诺沙星的抗菌效果。高娴<sup>[44]</sup>等制备的托氟沙星纳米乳被用来治疗胞内 *S. aureus* 和 *Salmonella* 的感染,托氟沙星纳米乳成功的解决托氟沙星难溶于水的问题,增强了托氟沙星的抗菌活性。王波臻等<sup>[45]</sup>制备的复方恩诺沙星纳米乳被用来治疗胞内 *S. aureus* 的感染,

采用纳米乳技术和联合用药的方法,该复方恩诺沙星纳米乳可有效渗入皮肤,经皮肤给药后,成功靶向感染细胞,发挥更强的抗菌活性。以上氟喹诺酮类纳米药物虽有较好的抗菌效果,可渗入宿主细胞内,且能达到较高的浓度,但其在胞内停留时间短,难以达到有效抑菌时间。

**2.6 其他** 目前已有克拉唑银固体脂质体纳米粒、盐酸万古霉素固体脂质体纳米粒、利福平固体脂质体纳米粒、达托霉素固体脂质体纳米粒、克拉霉素固体脂质体纳米粒等纳米抗菌药物被报道。Kalhapur 等<sup>[46]</sup>制备的克拉唑银固体脂质体纳米、盐酸万古霉素固体脂质体纳米被用来治疗胞内 *S. aureus* 的感染,通过固体脂质体纳米载药系统延长了盐酸万古霉素和克拉唑银对 *S. aureus* 的有效抑菌时间,从而提高了其对 *S. aureus* 的治疗效果。Bibi 等<sup>[47]</sup>制备的利福平固体脂质体纳米粒被用来治疗 *S. aureus* 的感染,利用固体脂质体纳米粒载药系统将利福平成功释放于胞内,且显著减少 *S. aureus* 的生物被膜的形成,从而有效降低细菌的致病力。Li 等<sup>[48]</sup>用制备的达托霉素固体脂质体纳米粒、克拉霉素固体脂质体纳米粒被用来治疗胞内 *S. aureus* 的感染,利用脂质体纳米技术提高了达托霉素和克拉霉素对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抗菌活性。以上纳米药物虽有较好的抗菌效果,利用脂质体纳米技术改善抗菌药物的活性,但还缺乏毒性和稳定性等相关研究。

### 3 结 语

通过纳米技术所制备的纳米抗菌药物可经过多种不同的转运途径进入宿主细胞内,显著提高抗菌药物对胞内菌感染的治疗效果。目前,纳米抗菌药物还存在着生产成本、稳定性、安全性等多种问题。故应根据抗菌药物的理化性质,采用合适的高分子载体材料,克服安全性、稳定性和载药量低等问题。深入纳米抗菌药物的相关研究,如粒径、电荷和分散系数等因素对于胞内纳米抗菌药物浓度和有效胞内停留时间的影响;同时根据特定胞内菌的生存策略,开发相应的纳米载药系统,通过纳米抗菌药物靶向性、持续性释放,提高胞内药物浓度

和延长有效胞内停留时间。此外,应加强中草药纳米抗菌药物对胞内菌感染的相关研究<sup>[49]</sup>,通过药动学-药效学模型制定出纳米抗菌药物对胞内菌感染的合理给药方案<sup>[50]</sup>。相信随着纳米技术不断地成熟,更多的纳米抗菌药物将会应用到解决胞内菌感染的难题上来,提高其治愈率,避免其耐药性。

### 参考文献:

- [1] 刘 丹, 达 飞, 鱼博侠, 等. 抗胞内菌感染的靶向载药系统的研究进展 [J]. 中国药师, 2017, 20 (11): 2057-2060.  
Liu D, Da F, Yu B X, et al. Research progress of targeted drug delivery system against intracellular infection [J]. Chinese Pharmacist, 2017, 20 (11): 2057-2060.
- [2] Wattanaphansak S, Pereira C, Kaenson W, et al. Isolation and *in vitro* antimicrobial susceptibility of porcine *Lawsonia intracellularis* from Brazil and Thailand [J]. BMC Microbiology, 2019, 19 (1): 27.
- [3] 周凯翔, 李 超, 王晓芳, 等. 纳米技术提高抗菌药物治疗胞内菌感染的研究进展 [J]. 中国兽药杂志, 2018, 52 (3): 58-66.  
Zhou K X, Li C, Wang X F, et al. Research progress of nano-technology in improving the treatment of intracellular bacterial infection with antibiotics [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2018, 52 (3): 58-66.
- [4] 宋智勇, 吴 阳, 韩鹤友. 智能化纳米释药系统用于细菌感染治疗的研究进展 [J]. 华中农业大学学报, 2020, 39 (1): 1-9.  
Song Z Y, Wu Y, Han H Y. Research progress of intelligent nano drug delivery system for the treatment of bacterial infections [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2020, 39 (1): 1-9.
- [5] Srivastava S K, Darokar M P, Sharma A, et al. Nano particles: emerging warheads against bacterial superbugs [J]. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2016, 16 (18): 1963-1975.
- [6] 刘玉敏, 金太花, 王建峰, 等. 盐酸血竭素对金黄色葡萄球菌分选酶 A 活性影响研究 [J]. 中国预防兽医学报, 2020, 42 (2): 84-88.  
Liu Y M, Jin T H, Wang J F, et al. Study on the effect of dracosin hydrochloride on the activity of *Staphylococcus aureus* sortase A [J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2020, 42 (2): 84-88.
- [7] 薛 梅. 头孢洛宁乳房注入剂对奶牛干乳期乳房炎的防治效果 [J]. 江苏农业科学, 2020, 48 (14): 207-210.

- Xue M. The effect of cefalonine udder injection on the prevention and treatment of mastitis in dairy cows during dry milk period [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2020, 48(14): 207–210.
- [8] 马志明, 马玉祥, 贾德宏. 四种药物对奶牛乳房炎的治疗效果比较 [J]. 中国牛业科学, 2016, 42(3): 28–29.
- Ma Z M, Ma Y X, Jia D H. Comparison of the therapeutic effects of four drugs on dairy cow mastitis [J]. Chinese Cattle Science, 2016, 42(03): 28–29.
- [9] 魏占勇, 刘欣, 魏丽娟, 等. 硫酸头孢唑林乳房注入剂治疗干乳期奶牛乳房炎的研究 [J]. 中国兽药杂志, 2015, 49(6): 38–44.
- Wei Z Y, Liu X, Wei L J, *et al.* Cefquinome sulfate breast injection for the treatment of milk cow mastitis [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2015, 49(6): 38–44.
- [10] 侯炜彤, 郭诗雨, 张玉, 等. 抗金黄色葡萄球菌抗体药物研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2020, 29(17): 1972–1978.
- Hou W T, Guo S Y, Zhang Y. Research progress of anti-*Staphylococcus aureus* antibody drugs [J]. Chinese Journal of New Drugs, 2020, 29(17): 1972–1978.
- [11] 张锐, 杨林, 张森洁, 等. 禽白血病和鸡白痢净化效果的调查与分析 [J]. 畜牧兽医学报, 2018, 49(8): 1709–1719.
- Zhang R, Yang L, Zhang M J, *et al.* Investigation and analysis of the purification effect of avian leukemia and chicken pullorum [J]. Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2018, 49(8): 1709–1719.
- [12] 杨晶. 浅谈散养鸡白痢病防治 [J]. 吉林畜牧兽医, 2020, 41(3): 31.
- Yang J. Talking about the prevention and treatment of free-range chicken pullorum [J]. Jilin Animal Husbandry and Veterinary, 2020, 41(3): 31.
- [13] 霍静, 卓春柳, 罗文博, 等. 沙门氏菌与宿主细胞囊泡的相互作用研究进展 [J]. 中国预防兽医学报, 2020, 42(7): 739–741.
- Huo J, Zhuo C L, Luo W B, *et al.* Research progress on the interaction between *Salmonella* and host cell vesicles [J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2020, 42(7): 739–741.
- [14] 刘立军, 冯金瑞. 几种鸡白痢治疗药物的筛选试验 [J]. 畜牧兽医杂志, 2017, 36(2): 149–150.
- Liu L J, Feng J R. The screening test of several drugs for pullorum disease [J]. Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2017, 36(2): 149–150.
- [15] 王昱, 陈俊, 陈枫, 等. 新西兰牛结核病区域化防控与启示 [J]. 中国动物检疫, 2017, 34(3): 70–74.
- Wang Y, Chen J, Chen F, *et al.* Regional prevention and control of bovine tuberculosis in New Zealand and its enlightenment [J]. China Animal Quarantine, 2017, 34(3): 70–74.
- [16] 郭银虎. 牛结核病防治技术规范 [J]. 农民致富之友, 2015(18): 276–277.
- Guo Y H. Technical specifications for prevention and treatment of bovine tuberculosis [J]. Friends of Farmers to Riches, 2015(18): 276–277.
- [17] Monka K W, Anna Z, Ewa, *et al.* Evaluation of susceptibility to antimycobacterial drugs in *Mycobacterium tuberculosis* complex strains isolated from cattle in Poland [J]. Journal of Veterinary Research, 2017, 61(1): 23–26.
- [18] 田海蓉, 王代英, 曾红, 等. 奶牛结核病的防控与净化 [J]. 贵州畜牧兽医, 2020, 44(5): 59–61.
- Tian H R, Wang D Y, Zen H, *et al.* Prevention, control and purification of tuberculosis in dairy cattle [J]. Guizhou Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2020, 44(5): 59–61.
- [19] 李少哈, 崔尚金, 秦彤. 牛结核病流行现状与诊断技术研究 [J]. 中国奶牛, 2020(10): 38–41.
- Li S H, Cui S J, Qin T. The epidemic status of bovine tuberculosis and research on diagnosis technology [J]. China Dairy Cow, 2020(10): 38–41.
- [20] 孙娅莉. 牛结核病防治策略 [J]. 中国畜禽种业, 2019, 15(11): 134.
- Sun Y L. Strategies for prevention and treatment of bovine tuberculosis [J]. China Livestock and Poultry Seed Industry, 2019, 15(11): 134.
- [21] Cheng C Y, Syn J, Yu H F, *et al.* Listeriolysin O pore-forming activity is required for ERK 1/2 phosphorylation during *Listeria monocytogenes* infection [J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11: 1146.
- [22] Garedew L, Taddese A, Biru T, *et al.* Prevalence and antimicrobial susceptibility profile of *listeria* species from ready-to-eat foods of animal origin in Gondar Town, Ethiopia [J]. BMC Microbiology, 2015, 15(1): 1–6.
- [23] Diego G, Ester A, Noelia M, *et al.* Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from meat products and meat-processing environment [J]. Food Microbiology, 2014, 42: 61–65.
- [24] 刘耀川, 高锋, 宋淑英, 等. 布鲁氏菌致病机理及发病风险因素简介 [J]. 现代畜牧兽医, 2017(9): 35–38.
- Liu Y C, Gao F, Song S Y, *et al.* Brief introduction to the pathogenic mechanism and risk factors of *Brucella* [J]. Modern Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2017(9): 35–38.



- [25] 张海霞, 孙晓梅, 魏凯, 等. 布鲁氏菌病的研究进展 [J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2018, 49(3): 402–407.  
Zhang H X, Sun X M, Wei K, *et al.* Research progress of brucellosis [J]. Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition), 2018, 49(3): 402–407.
- [26] 况宗南. 羊布鲁氏杆菌病的诊治 [J]. 畜牧兽医科技信息, 2018(11): 74.  
Kuang Z N. Diagnosis and treatment of brucellosis in sheep [J]. Animal Husbandry and Veterinary Science and Technology Information, 2018(11): 74.
- [27] 成明. 猪布鲁氏杆菌病的诊断要点及防治措施 [J]. 畜禽业, 2020, 31(8): 84–86.  
Cheng M. Diagnosis and control of brucellosis in swine [J]. Livestock and poultry, 2020, 31(8): 84–86.
- [28] Vannucci F A, Gebhart C J. Recent advances in understanding the pathogenesis of *Lawsonia intracellularis* infections [J]. Veterinary pathology, 2014, 51(2): 465–477.
- [29] 肖和良, 刘兴华. 邵阳市首例猪增生性回肠炎的诊断报告 [J]. 畜牧兽医科技信息, 2015(10): 72–74.  
Xiao H L, Liu, X H. Diagnosis and treatment report of the first case of porcine proliferative ileitis in Shaoyang City [J]. Journal of Animal Husbandry and Veterinary Science and Technology, 2015(10): 72–74.
- [30] 龙星. 广东部分猪场回肠炎的流行病学调查和防治效果的观察 [D]. 广州: 华南农业大学, 2016.  
Long X. Epidemiological investigation of ileitis in some pig farms in Guangdong and observation of control effect [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2016.
- [31] Prakash G D, Midhun B T, Monalisha E, *et al.* Chitosan – dextran sulphate nanocapsule drug delivery system as an effective therapeutic against intraphagosomal pathogen *Salmonella* [J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2013, 68(11): 2576–2586.
- [32] Zaki N M, Hafez M M. Enhanced antibacterial effect of ceftriaxone sodium – loaded chitosan nanoparticles against intracellular *Salmonella typhimurium* [J]. Aaps Pharmtech, 2012, 13(2): 411–421.
- [33] Abed N, Couvreur P. Nanocarriers for antibiotics: a promising solution to treat intracellular bacterial infections [J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2014, 43(6): 485–496.
- [34] Pothayee N, Ainj N, Vadala T P, *et al.* Block ionomer complexes containing cationic antibiotics to kill intracellular *Brucella melitensis* *in vitro* [J]. Polymers for Advanced Technologies, 2012, 23: 1484–1493.
- [35] Edurne I. Drug delivery systems for potential treatment of intracellular bacterial infections [J]. Frontiers in Bioence, 2010, 15(2): 397–417.
- [36] Li X, Xie S, Pan Y, *et al.* Preparation, characterization and pharmacokinetics of doxycycline hydrochloride and florfenicol polyvinylpyrrolidone microparticle entrapped with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes suspension [J]. Colloids & Surfaces B Biointerfaces, 2016: 634–642.
- [37] 张旭. 负载四环素的新型纳米抗菌剂的合成及其抗食源性致病微生物膜的研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.  
Zhang X. Synthesis of a new type of nano-antibacterial agent loaded with tetracycline and its biofilm against food-borne pathogens [D]. Yang Ling: Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, 2019.
- [38] Franklin R K, Marcus S A, Talaat A M, *et al.* A novel loading method for doxycycline liposomes for intracellular drug delivery: Characterization of *in vitro* and *in vivo* release kinetics and efficacy in a J774A.1 cell line model of *Mycobacterium smegmatis* infection [J]. Drug Metabolism & Disposition, 2015, 43(8): 1236–1245.
- [39] Araby E, Nada H G, Abou E S A, *et al.* Detection of tetracycline and streptomycin in beef tissues using Charm II, isolation of relevant resistant bacteria and control their resistance by gamma radiation. [J]. BMC Microbiology, 2020, 20(1): 186.
- [40] Zhou K, Wang X, Chen D, *et al.* Enhanced treatment effects of tilmicosin against *Staphylococcus aureus* cow mastitis by self-assembly sodium alginate-chitosan nanogel [J]. Pharmaceutics, 2019, 11(10): 524.
- [41] Al-Qushawi A, Rassouli A, Atyabi F, *et al.* Preparation and characterization of three tilmicosin-loaded lipid nanoparticles: Physicochemical properties and *in vitro* antibacterial activities [J]. Iranian Journal of Pharmaceutical Research IJPR, 2016, 15(4): 663–676.
- [42] Li Y, Su T, Zhaang Y, *et al.* Liposomal co-delivery of daptomycin and clarithromycin at an optimized ratio for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection [J]. Drug Delivery, 2015, 22(5).
- [43] Shuyu X, Fei Y, YanfT, *et al.* Enhanced intracellular delivery and antibacterial efficacy of enrofloxacin-loaded docosanoic acid solid lipid nanoparticles against intracellular *Salmonella* [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 53–66.
- [44] 高娟, 欧阳五庆, 李梦云, 等. 托氟沙星纳米乳的制备及其急性毒性研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2015, 46(11):

2069 – 2077.

Gao X, Ou Yang W Q, Li M Y, *et al.* Preparation of tofloxacine nanoemulsion and its acute toxicity study [J]. Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2015, 46 ( 11 ): 2069 – 2077.

[45] 刘 凯, 王波臻, 欧阳五庆, 等. 复方恩诺沙星纳米乳的制备及体外透皮性能考察 [J]. 畜牧与兽医, 2016, 48(3): 77 – 83.

Liu K, Wang B Q, Ou Y W Q, *et al.* Preparation of compound enrofloxacin nanoemulsion and its *in vitro* transdermal performance [J]. Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2016, 48(3): 77 – 83.

[46] Kalhapur R S, Sonawne S J, Sikwal D R, *et al.* Solid lipid nanoparticles of clotrimazole silver complex: An efficient nano antibacterial against *Staphylococcus aureus* and MRSA [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2015, 136: 651 – 658.

[47] Bibi S, Bahman K, Hamed Z, *et al.* Antibacterial efficacy of rifampin loaded solid lipid nanoparticles against *Staphylococcus epidermidis* biofilm [J]. Microbial Pathogenesis, 2016, 93: 137 – 144.

[48] Li Y, Su T, Zhang Y, *et al.* Liposomal co – delivery of daptomycin and clarithromycin at an optimized ratio for treatment of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* infection [J]. Drug delivery, 2015, 22(5): 627 – 637.

[49] 罗万和, 周凯翔, 菅复春, 等. 抗寄生虫中草药研究进展 [J]. 中兽医医药杂志, 2018, 37(4): 87 – 89.

Luo W H, Zhou K X, Huan F C, *et al.* Research progress of anti – parasitic Chinese herbal medicine [J]. Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine, 2018, 37(4): 87 – 89.

[50] Luo W, Qin H, Chen D, *et al.* The dose regimen formulation of tilmicosin against *Lawsonia intracellularis* in pigs by pharmacokinetic – pharmacodynamic (PK – PD) model [J]. Microbial Pathogenesis, 2020, 147: 104389.

( 编 辑: 李文平 )