

万古霉素分别联合四种中药对葡萄球菌作用的实验研究 *

陈开森 陈璇英 吕小林 廖晚珍 彭卫华
(南昌大学第一附属医院 江西南昌 330006)

关键词: 葡萄球菌; 万古霉素; 联合中药; 黄连; 金银花; 鱼腥草; 大青叶
中图分类号: R 969.3 文献标识码: B 文献编号: 1671-4040(2009)05-0090-02

抗菌药物的过多使用或滥用是发展中国家具有的普遍性问题,其引起的直接后果就是微生物耐药性不断增加,治疗时间越长则治疗越困难。对于革兰阳性球菌而言,葡萄球菌是医院感染常见的致病菌之一,主要耐药性是青霉素结合蛋白(PBP)的改变,主要有耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)、耐甲氧西林溶血葡萄球菌(MRSH)和耐甲氧西林表皮葡萄球菌(MRSE)。而对 MRSA、MRSH 和 MRSE 感染的主要治疗手段就是使用糖肽类抗生素——万古霉素。由于万古霉素过多用于临床,耐药菌株及 MIC 值有增大趋势。如何更长期地发挥万古霉素的作用时限,将是抗感染病学家面临的问题之一。中药在抗感染方面表现为作用时限长、作用效果低、副作用轻等特点,如何发挥中西药各自的长处,将是未来医药发展的方向。我们使用低剂量的万古霉素联合黄连、金银花、鱼腥草和大青叶在体外对 MRSA、MRSH 和 MRSE 进行杀菌作用的实验研究,以求了解两者作用的情况。现报道如下:

1 方法

1.1 中药提取液的制备 黄连、金银花、鱼腥草和大青叶从药店购买,56℃干烤 1h,各准确称取 40g 到 500mL 蒸馏水中浸泡 1h,用文火加热煮沸 1h,将水溶液倒出,剩余药材再次用文火加热煮沸 1h,两次水溶液混合,滤纸过滤,装入有刻度的烧瓶中,用文火加热使总液体容积为 200mL,故各中药浓度为 200g/L,105℃消毒 30min,冷却后放 -20℃冰箱备用。

1.2 万古霉素悬液的制备 严格在净化操纵台上称取万古霉素粉剂 0.5g,溶入高压消毒的 50mL 双蒸馏水中,浓度为 10mg/mL,使成原液。

1.3 细菌悬液的制备 MRSA、MRSH、MRSE 来源于临床分离菌株。做中药药敏试验前,将各种菌株在血培养皿中 35℃培养 18~24 h,挑取单个菌落制备成浓度为 $1\sim1.5\times 10^4$ L 的菌悬液。

1.4 中药最低抑菌浓度(MIC)测定 采用肉汤连续稀释法,所有操作在常温下进行^[1]。取无菌小试管

48 支,分 4 组每组 12 支,每支试管分别加入无菌营养肉汤 1.0 mL,在每组第 1 管分别加入含量为 200 g/L 的黄连、金银花、鱼腥草和大青叶溶液各 1.0mL 混匀。然后取 1.0 mL 加入第 2 管,依次加至第 10 管,最后一管取出 1.0mL 弃去,使得各管含黄连、金银花、鱼腥草和大青叶溶液浓度以倍数递减,第 10 管浓度为 0.2 g/L。各组的第 11 号管不加药液,第 12 号管加入 1.0mL 中药原液。然后第 1~11 管每管内加入试验浓度菌悬液 0.1mL,混匀,第 12 管不加菌悬液。第 1~10 管为试验组,第 11 管为阳性对照,第 12 管为无菌阴性对照。将所有接种管置 35℃培养箱中培养 18~24 h,观察结果。

1.5 万古霉素 MIC 值的测定 MRSA、MRSH 和 MRSE 菌株各计 10 株,参照仪器测定的万古霉素 MIC 值,应用肉汤稀释法进行 MIC 值测定,选用仪器测定的前后各两个数量级,共计 5 管,培养条件同上。

1.6 两者联合作用各自 MIC 值的测定 选用四种中药各自的 2 倍 MIC 值为该药物的最高浓度,依次对倍稀释,万古霉素与任何一种中药的稀释分别在方阵的纵列和横列进行,每管中有不同浓度组合的两种药物混合液。35℃培养 18~24h 后观察结果,同时计算出部分抑菌浓度指数。

1.7 结果判断 将反应后的各支试管 2 000 γ/min 离心 5min,去上清液,用接种环挑取低层沉淀物接种到普通哥伦比亚琼脂药敏平板上,35℃培养 18~24 h,以无菌生长的试管内药物稀释度的浓度为最低抑菌浓度(MIC)。同时要求在阳性对照管细菌生长正常,阴性对照管无菌生长。每种菌共选择 10 株,每株菌对应每个中药试验都重复 3 次。

2 结果

2.1 中药单独抗菌效果 结果表明,黄连抗菌效果最好,金银花次之,大青叶最差。黄连、金银花、鱼腥草和大青叶对 MRSA 的平均 MIC 值分别为 0.2、0.8、6.3、12.5 g/L;对 MRSH 的平均 MIC 值分别为 0.2、0.4、3.2、12.5g/L;对 MRSE 的平均 MIC 值分别

* 江西省 2007 年科技厅课题

鲍曼不动杆菌的耐药特征及合理用药分析

陈雨姣 黄和赞 熊跃
(江西省南昌市中西医结合医院 南昌 330003)

摘要:目的:连续监测我院鲍曼不动杆菌的耐药性特征,为临床合理选择抗感染治疗药物提供可靠依据。方法:对临床标本分离的鲍曼不动杆菌进行药敏试验及耐药性监测与分析。结果:鲍曼不动杆菌对亚胺培南、美罗培南、头孢哌酮/舒巴坦和氨苄西林/舒巴坦的耐药率分别为 5.8%、7.0%、10.5%和 30.2%,而其他抗菌药物的耐药率均大于 40%。结论:鲍曼不动杆菌是目前医院感染的重要条件致病菌之一,因其多重耐药率高,临床应慎重选择对鲍曼不动杆菌敏感的治疗药物。

关键词:鲍曼不动杆菌;耐药特征;合理用药

中图分类号:R 969.3

文献标识码:B

文献编号:1671-4040(2009)05-0091-02

鲍曼不动杆菌(A.baumannii, ABA)作为目前临床标本中分离到的第二位常见非发酵菌,已引起临床医师、临床药师及临床微生物检测的密切关注,特别是多重耐药菌株(同时耐 3 种以上抗菌药物),给临床感染治疗带来极大的困难。通过不断监测了解、掌握鲍曼不动杆菌的耐药特性,可直接为临床合理选择抗感染治疗药物提供可靠依据,以提升病人的治愈率。现就我院分离到的 86 株鲍曼不动杆

为 0.4、0.8、3.2、25g/L。结果见表 1。

表 1 黄连、金银花、鱼腥草和大青叶对阳性球菌作用的最小抑菌浓度 g/L													
菌种	药物浓度										阴性对照	阳性对照	平均 MIC 值
	100	50	25	12.5	6.3	3.2	1.6	0.8	0.4	0.2			
MRSA	黄连	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	+	0.2
	金银花	-	-	-	-	-	1	1	6	10	-	+	0.8
	鱼腥草	-	-	-	1	3	10	10	10	10	-	+	6.3
	大青叶	-	-	1	2	10	10	10	10	10	-	+	12.5
MRSH	黄连	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	+	0.2
	金银花	-	-	-	-	-	-	1	2	8	-	+	0.4
	鱼腥草	-	-	-	1	2	9	10	10	10	-	+	3.2
	大青叶	-	-	1	1	3	10	10	10	10	-	+	12.5
MRSE	黄连	-	-	-	-	-	-	2	2	10	-	+	0.4
	金银花	-	-	-	-	-	2	1	4	9	-	+	0.8
	鱼腥草	-	-	-	-	1	2	9	10	10	-	+	3.2
	大青叶	-	1	2	8	10	10	10	10	10	-	+	25

注: (-) 表示该浓度无菌生长, 数值表示该浓度下 10 株菌中, 有该数值的菌株生长。

2.2 万古霉素单独抗菌效果 对 MRSA 的平均 MIC 值为 2μg/mL; MRSH 的平均 MIC 值为 2μg/mL; MRSE 的平均 MIC 值为 4μg/mL。

2.3 四种中药分别联合万古霉素作用的效果 黄连: 浓度分布为 1/8MIC~1MIC 的万古霉素联合 1/8MIC~1/2MIC 的黄连, 最佳作用浓度为 1/2MIC 的万古霉素和 1/4MIC 的黄连。金银花: 浓度分布为 1/8MIC~1/2MIC 的万古霉素联合 1/8MIC~1/2MIC 的金银花, 最佳作用浓度为 1/2MIC 的万古霉素和 1/2MIC 的金银花。鱼腥草: 浓度分布为 1/8MIC~1/2MIC 的万古霉素联合 1/4MIC~1MIC 的鱼腥草, 最佳作用浓度为 1/2MIC 的万古霉素和 1/4MIC 的鱼腥草。大青叶: 浓度分布为 1/2MIC~1MIC 的万古霉素联合 1/4MIC~1MIC 的大青叶, 最佳作用浓度为 1MIC 的万古霉素和 1/2MIC 的大青叶。

2.4 四种中药分别联合万古霉素作用的部分抑菌浓度(FIC)指数 FIC 指数 = 万古霉素联合中药的 MIC 值 / 万古霉素的 MIC 值 + 中药联合万古霉素

菌的监测结果及耐药特征分析报告如下:

1 资料与方法

1.1 标本来源 86 株鲍曼不动杆菌来自南昌市中西医结合医院 2007 年 11 月~2008 年 11 月间住院病人临床标本, 分别为痰液 75 份, 引流液 7 份, 尿液 2 份, 血液 2 份, 并采用法国梅里埃公司 ATB 细菌鉴定仪鉴定到种。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853, 鉴定试剂的 MIC 值 / 中药的 MIC 值。黄连和万古霉素的 FIC 为 0.75, 表现为相加作用; 金银花和万古霉素的 FIC 为 1, 表现为相加或无关作用; 鱼腥草和万古霉素的 FIC 值为 0.75, 表现为相加作用; 大青叶和万古霉素的 FIC 值为 1.5, 表现为无关作用。

3 讨论

对黄连、金银花、鱼腥草和大青叶单独体外抗菌作用的研究发现, 黄连具有良好的作用效果, 金银花和鱼腥草具有低度抗菌能力, 而大青叶抗菌活性较差。通过中药分别联合万古霉素的作用发现, 黄连和鱼腥草的 FIC 值为 0.75, 表现为相加作用, 特别是黄连, 不但是已知中药中最强的抗菌药物, 而且对多种病原微生物都具有抗菌活性^[2]。且有资料表明, 其主要通过生物碱发挥作用^[3]。鱼腥草抗菌剂量较大, 但具有来源丰富、毒性低等特点, 制备成制剂后能通过口服服用, 故应用价值广泛。虽然金银花和万古霉素没有协同或相加作用(FIC 值 =1), 但由于金银花为我国常见中药, 应用历史悠久, 如果出现葡萄球菌感染时, 且细菌对万古霉素的 MIC 值过大时, 可考虑辅助应用金银花治疗。大青叶虽来源丰富, 但抗菌效果差, 且和万古霉素联合表现为无关作用, 故不必考虑进行葡萄球菌感染的单独或联合万古霉素治疗。

参考文献

[1]周邦清.常用中药的抗菌作用及其测定方法[M].重庆:科技文献出版社,1987.289
[2]王秀杰.黄连的药理研究及现代应用[J].中国医师,2003,6(6): 370
[3]陈晓儿.综述黄连有效成分及药理作用[J].学会,2002,28(4): 64

(收稿日期: 2009-03-25)