

## 虎杖对 3 种耐药细菌的抗菌效果分析

古小琼, 李朝金, 赵 峰, 张英云, 陈邦敏, 王 逊(四川省攀枝花市十九冶医院 617023)

**【摘要】 目的** 观察中药虎杖不同含量熬制成中药汤对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)、多重耐药铜绿假单胞菌及产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶(ESBLs)大肠埃希菌的抗菌效果, 并进行分析。**方法** 收集攀枝花市十九冶医院住院患者分离的 45 株 MRSA, 其中非 *mecA* 基因介导的 25 株、*mecA* 基因介导的 20 株, 20 株多重耐药铜绿假单胞菌, 65 株产 ESBLs 大肠埃希菌分别配成 0.5 个麦氏点的菌悬液, 分别用 20、30、40、50、60、70 g 虎杖熬成不同含量的中药汤, 采用琼脂稀释法制备平板, 在制备的平板上用打孔的方法接种细菌。**结果** 25 株非 *mecA* 基因介导的 MRSA 和 20 株多重耐药的铜绿假单胞菌在 30 g 含量以下虎杖中药汤制备的平板中均生长, 40 g 及 40 g 以上含量虎杖中药汤制备的平板中均不生长; 20 株 *mecA* 基因介导的 MRSA 在 50 g 含量以下虎杖中药汤制备的平板中均生长, 50 g 及 50 g 以上含量虎杖中药汤制备的平板中不生长; 65 株产 ESBLs 大肠埃希菌在所有含量虎杖中药汤制备的平板中均生长。**结论** 40 g 及 40 g 以上含量的虎杖中药汤可以抑制非 *mecA* 基因介导的 MRSA 和多重耐药的铜绿假单胞菌的生长, 具有抗菌效果; 50 g 及 50 g 以上含量虎杖中药汤可以抑制 *mecA* 基因介导的 MRSA 的生长, 具有抗菌效果; 所有含量的虎杖中药汤均不能抑制产 ESBLs 大肠埃希菌, 对产 ESBLs 大肠埃希菌不具有抗菌效果。

**【关键词】** 虎杖; 甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌; 多重耐药铜绿假单胞菌; 产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶大肠埃希菌; 抗菌; 效果分析

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.09.007 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)09-1038-02

**Antibacterial effect analysis of polygonum cuspidatum to armour oxygen estwood drug resistant staphylococcus aureus, multiple drug resistant pseudomonas aeruginosa, and ESBLs escherichia coli** GU Xiao-qiong, LI Chao-jin, ZHAO Feng, ZHANG Ying-yun, CHEN Bang-min, WANG Xun (Shi Jiu Ye Hospital of Panzhihua, Panzhihua, Sichuan 617023, China)

**【Abstract】 Objective** To observe and analyze the antibacterial effect of polygonum cuspidatum to oxygen resistance Westwood staphylococcus aureus (MRSA), multiple drug resistant pseudomonas aeruginosa, and ESBLs escherichia coli. **Methods** 45 strains of MRSA (25 strains mediated by the *mecA* gene, 20 strains mediated by *mecA* gene), 20 strains of multiple drug resistant strains of pseudomonas aeruginosa, and 65 strains of ESBLs escherichia coli separated from hospitalized patients was collected and made into 0.5 McIntosh points with the bacterium levitation liquid, respectively. Bacteria was vaccinated in the preparation of the slab of drilling method, with 20 g, 30 g, 40 g, 50 g, 60 g, and 70 g of polygoni cuspidati boiled into different contents of traditional Chinese medicine soup, using AGAR dilution legal prepare flat. **Results** 25 strains of *mecA* gene and 20 strains of multiple drug resistant not mediated with MRSA increased in 30 g contents of pseudomonas aeruginosa in traditional Chinese medicine soup, but they did not increased in 40 g and 40 g above contents of pseudomonas aeruginosa in traditional Chinese medicine soup. 20 strains of *mecA* gene mediated with MRSA increased in 50 g contents below of pseudomonas aeruginosa in traditional Chinese medicine soup, but they did not increased in 50 g and 50 g above contents of pseudomonas aeruginosa in traditional Chinese medicine soup. 65 strains of ESBLs escherichia coli increased in all contents of pseudomonas aeruginosa in traditional Chinese medicine soup. **Conclusion** The contents of 40 g and 40 g above polygonum cuspidatum in Chinese medicine soup can inhibit the growth of MRSA and multiple drug resistant of pseudomonas aeruginosa not mediated by *mecA* gene, with antibacterial effect. 50 g and 50 g above polygonum cuspidatum in Chinese medicine soup can inhibit the growth of MRSA mediated by *mecA* gene, with antibacterial effect. All of the contents of polygonum cuspidatum in Chinese medicine soup can not inhibit the growth of ESBLs escherichia coli, with no antibacterial effect.

**【Key words】** polygonum cuspidatum; armour oxygen estwood drug-resistant staphylococcus aureus; multiple drug resistant pseudomonas aeruginosa; ESBLs escherichia coli; antibacterial; effect analysis

由于抗菌药物的不规范使用, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA)、多重耐药的铜绿假单胞菌、产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶 (ESBLs) 大肠埃希菌、新德里金属  $\beta$ -内酰胺酶-1 (NDM-1) 的大肠埃希菌等广泛耐药的“超级细菌”<sup>[1]</sup> 不断出现, 加快了患者的

病死率和增加了医院感染控制的难度,它们的耐药性已在很多国家出现和被报道<sup>[2-4]</sup>,我国细菌耐药性与世界大环境均呈增长趋势<sup>[5]</sup>,传统的中草药虎杖具有抗菌效果<sup>[6]</sup>。作者采用不同含量的虎杖熬制成中药汤,对 MRSA、多重耐药铜绿假单胞菌、产 ESBLs 大肠埃希菌的抗菌效果进行了分析,现报道如下。

### 1 材料与与方法

**1.1 菌株来源** 130 株细菌均来自临床标本分离的菌株,所有菌株均使用法国生物梅里埃公司生产的 VIKET2 COMPACT 全自动微生物鉴定系统进行鉴定,以及有临床经验的检验师进行表型确证试验及采用聚合酶链反应进行基因测试试验。以大肠埃希菌(ATCC 35218、ATCC 25922),金黄色葡萄球菌(ATCC 43300、ATCC 29213),铜绿假单胞菌(ATCC 27853)作为质控菌株,均来源于四川省临床检验中心。

**1.2 试剂与仪器** 虎杖(安徽省亳州市药材总公司中西药公司);M-H 琼脂干粉、肉汤干粉(英国 Oxoid 公司);表型确证及筛选药敏纸片(北京天坛药物生物技术开发公司);VIKET2 COMPACT 全自动微生物鉴定仪、比浊仪(法国梅里埃公司);GeneAmp PCR System2700(美国 PE 公司);培养箱(美国赛默飞世尔公司)。

### 1.3 方法

**1.3.1 MRSA 及 MRSA 的 *meca* 基因、多重耐药的铜绿假单**

胞菌、产 ESBLs 大肠埃希菌的试验检测按 2010 年 1 月临床和实验室标准协会颁布的《抗生素药敏试验执行标准》推荐的方法和聚合酶链反应试验进行鉴定。

**1.3.2 不同含量中药汤的熬制** 分别称取虎杖 20、30、40、50、60、70 g,各加无菌去离子水 500 mL 浸泡 10 min,煮沸,再用微火熬制 30 min,过滤分装于无菌瓶中备用。

**1.3.3 M-H 琼脂液的配制** 按 38 g M-H 琼脂干粉加 1 000 mL 蒸馏水的比例配制,pH 值 7.4,于 121 °C 高压灭菌后备用。

**1.3.4 中药汤琼脂稀释平板的制备** 采用琼脂稀释法取 1 mL 不同含量的中药汤,加入消毒后的 90 mm 平板中,再把冷却至 55 °C 的 M-H 琼脂液 25 mL 倒入平板中混匀冷却凝固。

**1.3.5 试验过程** 把 130 株临床菌株和 5 株质控菌株制成 0.5 个麦氏点的菌悬液,再把每个不同含量的中药汤琼脂稀释平板打成 7 孔,分别接种 1 μL 菌液置培养箱孵育 24~48 min 观察结果。

## 2 结果

不同虎杖含量熬制的中药汤对 3 种细菌的抗菌效果见表 1。25 株非 *meca* 基因介导的 MRSA 和 20 株多重耐药的铜绿假单胞菌在 30 g 含量以下虎杖中药汤制备的平板中均生长、40 g 及 40 g 以上含量虎杖中药汤制备的平板中均不生长;65 株产 ESBLs 大肠埃希菌在所有含量虎杖中药汤制备的平板中均生长。

表 1 不同虎杖含量对 3 种耐药细菌的抗菌效果

虎杖含量(g)	65 株产 ESBLs 大肠埃希菌	20 株 <i>meca</i> 基因介导的 MRSA	25 株非 <i>meca</i> 基因介导的 MRSA	20 株多重耐药铜绿假单胞菌
20	生长	生长	生长	生长
30	生长	生长	生长	生长
40	生长	生长	未生长	未生长
50	生长	未生长	未生长	未生长
60	生长	未生长	未生长	未生长
70	生长	未生长	未生长	未生长

## 3 讨论

虎杖是一种重要的中药材,具有清热解毒、抗菌抗病毒等作用,它的抗菌作用在已往的研究中主要针对不耐药的铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌等<sup>[7]</sup>,抗菌成分的提取<sup>[8]</sup>和药理研究<sup>[9]</sup>报道较多,而对多重耐药和产酶的细菌抗菌效果研究较少。虎杖对耐药菌株的抗菌作用未做进一步研究,而多重耐药和产酶的细菌在临床上已经大量出现,控制细菌感染的任务十分艰巨。本实验室用不同含量的虎杖熬制成的中药汤对 MRSA、多重耐药铜绿假单胞菌的抗菌试验结果表明,不同含量的虎杖中药汤对这类耐药细菌具有很好的抗菌效果;但不同含量的虎杖中药汤对产 ESBLs 的大肠埃希菌无抗菌作用。

MRSA 的耐药性是由非 *meca* 和 *meca* 基因介导的,由表 1 可见,40 g 及 40 g 以上的虎杖中药汤可以抑制非 *meca* 基因介导的 MRSA 生长,而 *meca* 基因介导的 MRSA 需 50 g 及 50 g 以上含量的虎杖中药汤才能抑制其生长。因此虎杖对 MRSA 的抗菌效果需要根据 MRSA 的耐药机制选择虎杖中药汤的不同含量。

本研究结果表明,不同含量的虎杖中药汤对多重耐药铜绿

假单胞菌和 MRSA 同样具有很好的抗菌作用。由此提示在用抗生素治疗多重耐药菌和产酶菌无效时,中药虎杖具有良好的抗菌作用,对控制多重耐药菌和产酶菌的医院感染具有一定的作用,为使用中医药治疗“超级细菌”提供了一种新的思路。

### 参考文献

- [1] 俞云松. 正确认识新德里金 β 内酰胺酶-1 的超级细菌[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(12): 1109-1111.
- [2] Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK; a molecular, biological, and epidemiological study[J]. Lancet Infect Dis, 2010, 10: 597-602.
- [3] 王坚. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的检测及药敏分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(18): 2303-2304.
- [4] 宁立芬, 汪玉珍, 张家芳, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药性及 *ermA* 基因的检测分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(5): 484-486.
- [5] Nordman P, Cuzon G, Naas T. The real threat of Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing (下转第 1041 页)

## 2 结果

**2.1 病例组和健康对照组血清 TBA 水平比较** 肝硬化组、肝癌组、梗阻性黄疸组和健康对照组血清 TBA 水平分别是 (73.3 ± 55.4)、(36.9 ± 40.3)、(105.1 ± 83.4)、(4.7 ± 3.0) μmol/L, 肝硬化组、肝癌组、梗阻性黄疸组血清 TBA 水平较健康对照组明显升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 且肝硬化

组和梗阻性黄疸组明显高于肝癌组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。

**2.2 病例组血清 TBA 与传统肝功能酶学指标阳性率比较** 见表 1。TBA 在肝硬化、肝癌和梗阻性黄疸中阳性率均明显高于传统肝功能酶学指标, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。

表 1 肝胆疾病患者血清 TBA 与传统肝功能酶学指标阳性率比较 [n(%)]

组别	n	TBA	ALT	AST	ALP	GGT
肝硬化组	50	50(100.0)	17(34.0)	18(36.0)	18(36.0)	40(80.0)
肝癌组	25	20(80.0)	5(20.0)	8(32.0)	15(60.0)	18(72.0)
梗阻性黄疸	45	45(100.0)	25(55.6)	23(51.1)	20(44.4)	36(80.0)

## 3 讨论

胆汁酸是胆汁的主要成分, 包括初级胆汁酸和次级胆汁酸, 初级游离胆汁酸是胆固醇在肝脏中生物转化的产物, 其与甘氨酸、牛磺酸结合形成初级结合胆汁酸, 后者随胆汁排入肠道后经细菌分解转变为次级胆汁酸, 胆汁酸是体内胆固醇的主要代谢产物, 贮存在胆囊, 排入肠道的胆汁酸 95% 被重吸收, 经门静脉至肝, 与新合成的胆汁一同贮存于胆囊, 再可随汁排入肠道, 形成胆汁酸的肠肝循环, 使胆汁酸反复得到利用<sup>[1]</sup>。所以, 健康人血液中胆汁酸浓度很低。胆汁酸的生成和代谢与肝脏有密切关系, 检测 TBA 水平可以反映肝脏分泌合成、代谢及肝细胞损伤 3 个方面的血清学指标<sup>[2]</sup>。当肝细胞发生病变, 血清 TBA 很容易升高, 因而血清 TBA 水平是反映肝实质损伤的一项重要指标<sup>[3-4]</sup>。胆道梗阻、肝内胆淤积时, 由于胆汁排泄受阻, 引起血液中胆汁酸增高<sup>[5]</sup>。本资料结果显示, 肝硬化组、肝癌组、梗阻性黄疸组血清 TBA 结果明显高于健康对照组, 与文献<sup>[6]</sup>报道一致。本资料结果同时显示, 肝硬化组和梗阻性黄疸组的 TBA 水平明显高于肝癌组, 并且 TBA 在梗阻性黄疸中变化尤其明显, 其均值较肝癌组显著升高, 由此说明 TBA 不仅是反映肝细胞损伤的良好指标, 而且对梗阻的诊断更敏感<sup>[7]</sup>。

由表 1 可见, 各组 TBA 检测阳性率均高于其他传统的肝功能酶学指标。肝硬化、肝癌时血清 TBA 升高的原因: 一方面可能是肝细胞广泛变性坏死, 影响了胆汁酸的代谢; 另一方面, 肝硬化时导致门静脉高压, 侧支循环建立, 使肠道经门静脉分流直接进入循环, 造成血清 TBA 增高<sup>[8-10]</sup>。在肝硬化和梗阻性黄疸中, TBA 阳性率均为 100.0%, 除 GGT 为 80.0% 外, 其他酶学指标均在 60.0% 以下。也就是说, 当肝硬化和梗阻性黄疸发生后, TBA 已表现为增高, 而传统肝功能酶学指标常表现为正常或轻度增高。在肝癌组, 除 GGT 阳性率为 72.0%, 与 TBA 80.0% 接近外, 其余酶学指标均低于 70.0%。表 1 结果同时显示, 在肝硬化组、肝癌组、梗阻性黄疸组中, TBA 升高

与 GGT 基本平行, 而其他指标不如其明显。由此说明 TBA 在上述疾病中与 GGT 一样都是反映肝细胞损伤的灵敏指标。

综上所述, TBA 是反映肝细胞损伤和胆道梗阻的良好指标, 其灵敏度和特异性明显优于传统肝功能酶学检测指标, 对肝胆疾病早期诊断、监测等具有其他项目不可替代的作用。因此将血清 TBA 测定列为肝功能常规检测项目, 对于诊断肝胆疾病是较理想的选择。

## 参考文献

- [1] 王吉耀. 内科学[M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 496.
- [2] 曹学民. 血清总胆汁酸测定在肝脏疾病中的临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(1): 151-152.
- [3] 谢杏仪. 血清总胆汁酸测定在肝脏疾病中的应用[J]. 实用医技杂志, 2007, 14(4): 437-438.
- [4] 蒙政媛. 260 例乙型肝炎患者血清总胆汁酸检测分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(3): 315-316.
- [5] 赵崇贵, 罗菊香. 血清总胆汁酸及谷丙转氨酶测定在肝胆疾病中的意义[J]. 吉林医学, 2010, 31(24): 4042.
- [6] 倪文伟, 顾猛, 曹小秋, 等. 血清总胆汁酸在肝脏疾病中的临床意义[J]. 实用全科医学, 2007, 8(8): 736-737.
- [7] 廖琳, 王峰, 吕金龙, 等. 血清总胆汁酸测定在肝脏疾病中的临床价值[J]. 临床医学, 2007, 27(8): 54.
- [8] 张莹兰, 张弢, 周祖发. 血清中总胆汁酸测定在肝脏疾病中的临床价值[J]. 医药论坛杂志, 2009, 30(4): 1-5.
- [9] 冀春梅. 血清总胆汁酸检测对肝硬化的临床诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(1): 74.
- [10] 孙丽娟. 血清总胆汁酸测定对肝病的诊断意义[J]. 实用医学检验杂志, 2001, 8(1): 26.

(收稿日期: 2011-12-17)

(上接第 1039 页)

bacteria[J]. Lancet Lancet Dis, 2009, 9: 228-236.

- [6] 药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 145-146.
- [7] 高学敏. 中药学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 787-788.

- [8] 汤洪波, 周健. 虎杖中挥发性成分的酶提取及 GC-MS 分析[J]. 四川中医, 2010, 28(12): 58-59.
- [9] 薛岚. 中药虎杖的药理研究进展[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(11): 651.

(收稿日期: 2011-12-17)