

# 金黄色葡萄球菌耐药的临床分析及姜黄素对其抑制效果分析

骆恒芳, 潘成明, 冯凌思, 罗莉芸, 吴惠强, 杜为强 (广东省佛山市高明区人民医院检验科 528000)

**【摘要】 目的** 分析金黄色葡萄球菌(SA)耐药情况和姜黄素及其新衍生物对其抑制的效果。**方法** 采用法国梅里埃公司生产的全自动药敏鉴定仪鉴定,用滤纸保藏法保存菌株,姜黄素及其衍生物抑菌效果采用琼脂纸片扩散法进行测试。**结果** 甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌(MRSA)呈多重耐药性,但未发现万古霉素耐药 SA 或万古霉素中介 SA。甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)除对青霉素、氨苄西林的耐药率为 80% 以上外,对其余抗菌药物均较敏感。姜黄素衍生物 2 号药物对 SA 菌株体外药敏有明显的抑菌环。**结论** 临床治疗 SA 应根据药敏试验结果,合理使用抗药物。姜黄素衍生物的抑菌效果比姜黄素明显,其中 2 号衍生物效果最明显。

**【关键词】** 金黄色葡萄球菌; 耐药分析; 姜黄素

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.18.011 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)18-2376-02

**Analysis on drug resistance of Staphylococcus aureus and inhibitory effects of curcumin** LUO Heng-fang, PAN Cheng-ming, FENG Ling-si, LUO Li-yun, WU Hui-qiang (People's Hospital of Gaoming District, Foshan, Guangdong 528000, China)

**【Abstract】 Objective** To analyze the drug resistance of Staphylococcus aureus (SA) and the inhibitory effects of curcumin and its derivatives on SA. **Methods** BioMerieux identification system were adopted for bacteria identification, strains were preserved by filter paper method, and the inhibitory effects of curcumin and its derivatives were detected by agar disk diffusion method. **Results** Methicillin resistant staphylococcus aureus were with multi-drug resistance, but no vancomycin-resistant or vancomycin-intermediate SA was found. Resistance rates of methicillin sensitive staphylococcus aureus (MSSA) to penicillin and ampicillim were more than 80%, but almost all MSSA were sensitive to other antimicrobial agents. No. 2 curcumin derivative could inhibit SA proliferation obviously. **Conclusion** Antibiotics should be rationally used to therapy SA infection, according to the results of drug sensitivity test. The inhibitory effects of curcumin derivatives, especially No. 2 derivative (curcumin FMO4), might be significantly obvious than curcumin.

**【Key words】** Staphylococcus aureus; antibiotic resistance; curcumin

金黄色葡萄球菌(SA)是重要的致病菌,可引起社区和医院感染。感染常以急性、化脓性为特征<sup>[1]</sup>。感染如果未经治疗,感染可扩散至周围组织或经菌血症转移至其他器官。同时,SA 还是国内外医院获得性感染最常见的细菌之一,许多国家设有专门机构研究,控制 SA 医院感染<sup>[2]</sup>。该菌获得多重的速度很快,近年来随着抗菌药物在临床的广泛应用,葡萄球菌的耐药性已演变为医院感染和临床治疗的棘手问题。特别是多重耐药性甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌(MRSA)菌株的出现。已到了除万古霉素外无药可用的地步,国外曾有报道有耐万古霉素菌株出现,已有研究表明,姜黄素具有抗炎、抗氧化、抑菌等作用<sup>[3]</sup>。姜黄素是从姜黄根茎中提取的一种黄色色素,主要成分为姜黄素,相对分子质量为 368.37;为橙黄色结晶性粉末,熔点为 183 ℃,不溶于水及乙醚,溶于乙醇及冰醋酸。但由于其在水中溶解度极小,血药浓度低,体内不易吸收,生物利用度低,影响药效发挥<sup>[4]</sup>。为了更好地探讨一种对 SA 有抑制作用的药物,现将新合成的姜黄素 1~10 号衍生物和姜黄素进行临床菌株的体外测试。为此,于 2008 年 4~12 月从本院收集 206 株 SA,对其耐药情况进行分析并观察姜黄素及其衍生物对其中 15 株菌的抑制效果。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 2008 年 4~12 月从本院收集的 206 株 SA 作为实验菌株,质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC25913、ATCC25923,新华一号定性滤纸,1 mL EP 管,羊血平板培养

基(江门凯林贸易公司)、水解酪蛋白(MH)琼脂药敏板(干粉培养基,英国 OXIOD)、空白纸片(英国 OXIOD)。

## 1.2 方法

**1.2.1** 按照《全国临床检验操作规程》进行分离,培养,鉴定,采用 MicroScan Walk A2way96s1 微生物鉴定药敏分析仪、MicroScan PC12 鉴定药敏复合板进行鉴定。药敏结果采用 WHO2NET5.3 分析系统统计分析<sup>[5]</sup>。

**1.2.2** 采用滤纸保藏法收集菌株<sup>[6]</sup>,滤纸置于 1 mL EP 管中,封口,于-70 ℃冰箱中保存。

**1.2.3** 药敏试验 采用琼脂纸片扩散法(Kirby-Bauer 法)<sup>[7]</sup>。实验菌株用羊血平板复活,根据《全国临床检验操作规程》进行菌液接种,在平板表面标记 1~10 号药物区域和空白纸片区域,取空白纸片用生理盐水湿润,分别沾取姜黄素及其衍生物 1~10 号药物并用无菌镊子将含药纸片紧贴相对应的琼脂表面。

## 2 结果

**2.1 标本类型分布** 206 株金黄色葡萄球菌,分离自痰标本 129 株,占 62.62%;分泌物标本 47 株,占 22.82%;血液标本 13 株,占 6.31%;胸腹水 7 株,占 3.40%;脓液标本 5 株,占 2.43%;脑脊液标本 3 株,占 1.46%;尿液标本 2 株,占 0.97%。  
**2.2 病区感染分布** 206 株金黄色葡萄球菌中,重症监护病房 57 株,占 27.67%;中医康复科 27 株,占 13.11%;综合科 16 株,占 7.77%;呼吸内科病房 16 株,占 7.77%;神经内科病房 12 株,占 5.83%;内分泌科病房 10 株,占 4.85%;骨外科病房 10 株,占

4.85%；外单位 9 株,占 4.37%；血液内科病房 7 株,占 3.40%；肾内科病房 7 株,占 3.40%；消化内科病房 7 株,占 3.40%；烧伤科病房 7 株,占 3.40%；神经外科病房 3 株,占 1.46%；门诊 3 株,占 1.46%；其他病房 15 株,占 7.28%。其他病房包括普外一科、儿科、化疗科、心胸外科、皮肤科、爱婴区、妇科。

**2.3 药敏试验结果** 206 株金黄色葡萄球菌中 MRSA 119 株,占 57.8%。甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)87 株,占 42.2%。SA 耐药情况见表 1,对呋喃妥因、利福平、复方磺胺甲噁唑保持较高敏感性,但未发现对万古霉素中介或耐药的 SA。

表 1 206 株 SA 对抗菌药物的耐药情况(%)

| 抗菌药物      | MRSA  | MSSA | SA   |
|-----------|-------|------|------|
| 青霉素 G     | 100.0 | 83.9 | 93.2 |
| 氨苄西林      | 100.0 | 83.9 | 93.2 |
| 头孢唑啉      | 94.1  | 0.0  | 54.4 |
| 环丙沙星      | 82.4  | 16.1 | 54.9 |
| 左旋氧氟沙星    | 82.4  | 16.1 | 54.9 |
| 庆大霉素      | 89.1  | 24.1 | 61.7 |
| 红霉素       | 93.2  | 33.3 | 63.1 |
| 万古霉素      | 0.0   | 0.0  | 0.0  |
| 氯霉素       | 0.0   | 0.0  | 0.0  |
| 四环素       | 51.3  | 29.9 | 42.2 |
| 克林霉素      | 83.2  | 27.6 | 59.7 |
| 利福平       | 52.9  | 3.4  | 32.0 |
| 复方磺胺甲噁唑   | 21.8  | 1.1  | 13.1 |
| 苯唑青霉素     | 100.0 | 1.1  | 57.8 |
| 亚胺培南      | 52.4  | 0.0  | 52.4 |
| 阿莫西林/棒酸   | 90.8  | 1.1  | 52.9 |
| 呋喃妥因      | 2.5   | 1.1  | 1.9  |
| 哌拉西林/他唑巴坦 | 0.0   | 0.0  | 0.0  |

**2.3 保菌效果** 将 15 株 SA 转种于羊血平板上,均见纯菌生长。

**2.4 姜黄素抑菌效果** 衍生物和姜黄素对 15 株 SA 和质控菌株的抑制情况见表 2,其中前 10 株为 MRSA,后 5 株为 MSSA,大肠埃希菌株作阴性对照,试用的 10 种药物中,2 号药物效果最明显,可见明显的抑菌环(直径 8~9 mm,记为+)。其他药物效果不明显,无抑菌环(记为-),空白纸片均为-。

表 2 姜黄素衍生物和姜黄素对 15 株 SA 和质控菌株的抑菌效果

| 菌株     | 1号 | 2号 | 3号 | 4号 | 5号 | 6号 | 7号 | 8号 | 9号 | 10号 |
|--------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| 812050 | +  | +  | +  | +  | +  | +  | -  | -  | -  | -   |
| 812014 | +  | +  | +  | +  | +  | +  | -  | -  | -  | -   |
| 812587 | +  | +  | +  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -   |
| 811626 | +  | +  | +  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -   |
| 812103 | +  | +  | +  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -   |
| 812576 | +  | +  | +  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -   |
| 812099 | +  | +  | +  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | +   |
| 811634 | +  | +  | +  | +  | +  | +  | -  | -  | -  | -   |
| 812738 | +  | +  | +  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -   |
| 23055  | +  | +  | +  | -  | -  | -  | -  | -  | +  | -   |
| 812814 | +  | +  | +  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | +   |
| 812828 | +  | +  | +  | +  | +  | -  | -  | -  | -  | -   |

续表 2 姜黄素衍生物和姜黄素对 15 株 SA 和质控菌株的抑菌效果

| 菌株        | 1号 | 2号 | 3号 | 4号 | 5号 | 6号 | 7号 | 8号 | 9号 | 10号 |
|-----------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| 22621     | -  | +  | +  | -  | +  | +  | -  | -  | -  | +   |
| 22620     | -  | +  | +  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -   |
| 23008     | +  | +  | +  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -   |
| ATCC25913 | -  | +  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -   |
| ATCC25923 | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | -  | +   |
| 大肠菌株      | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -   |

3 讨 论

从临床标本分布看,SA 感染的 206 例患者感染部位以呼吸道感染最常见,痰标本的检出率为 62.62%；其次为伤口感染,伤口分泌物的检出率为 22.82%，以上均与大量使用抗菌药物有密切关系；血液感染较少,检出率为 6.31%。这与王敏等<sup>[8]</sup>报道的以伤口感染最常见,伤口分泌物的检出率为 50.0%有很大的差距,这说明 SA 在标本类型分布上存在地区差异性。从 SA 在临床各科室的分布看,主要分布于重症监护室、神经外科、呼吸内科、皮肤科、烧伤整形科和骨科。重症监护室感染率最高,以呼吸道感染为主,这与患者患有严重的原发病,造成免疫功能低下、排痰困难、胃内容物反流误吸有关,使用呼吸机、静动脉插管、留置尿管插管、施行气管切开术等侵入性操作也增加了 MRSA 传播的机会,反复应用抗菌药物及激素也是重要原因。

18 种抗菌药物对 SA 的体外药敏实验结果表明,MRSA 呈多重耐药性,除万古霉素、氯霉素、哌拉西林/他唑巴坦外,其他药物均产生相应的耐药率,对于 MRSA 治疗可用利福平、复方磺胺甲噁唑、呋喃妥因、万古霉素、四环素此类有较高抗菌活性药物,但利福平、复方磺胺甲噁唑、四环素有耐药性升高较快的趋势,应注意合理用药。有报道,虽然利福平的体外抗菌活性较好,但由于其在体内很容易引起耐药性,故不主张单独应用,最好和其他抗 MRSA 的药物联合使用。利福平对 MRSA 有着较好抗菌活性且不良反应要低于万古霉素,因此可选择利福平辅助万古霉素治疗。而对于 MSSA,除了青霉素和氨苄青霉素均呈高度耐药,耐药率为 80%以上,大环内酯类和四环素耐药率约 30%左右,其余抗菌药物均保持较高的敏感性。所以,临床上治疗 SA 感染应注意监测 MRSA 的出现,同时在 MSSA 与 MRSA 的治疗上根据药敏合理区分用药,防止 MRSA 多重耐药株的出现与传播。由于 MRSA 感染增多,目前已有报道万古霉素对 MRSA 的敏感性有下降趋势,虽然此次分离的 SA 未发现有耐万古霉素 SA 或万古霉素中介 SA,但在日本、美国已出现低耐万古霉素的金黄色葡萄球菌(VISA),国内也有耐药菌株的报道。所以临床上应严格限制使用,只有在其他抗菌药物都耐药时才使用,以防止 MRSA 对其产生耐药性。为了避免出现对于 SA 已无药可用的严峻情况,研究新药以抑制 SA 是非常必要的。

姜黄素及其衍生物的体外测试效果表明,药物 2 号(姜黄素 FMO4)对 SA 有明显抑制作用,可见明显抑菌环(直径 8~9 mm),比姜黄素的抑制效果更明显和稳定,其他衍生物也可见对部分菌株有抑制作用。同时,实验表明,姜黄素及其衍生物对 SA 抑制活性强于大肠埃希菌。鉴于姜黄素衍生物有明显抑菌效果,较强的体外抗 SA 作用,有进一步开发研究的前景。

CRP、UAER 高度呈正相关性( $r=0.77, P<0.01, r=0.64, P<0.05$ ), 血浆 RBP4 亦有随着 HbA1c(%) ( $r=0.33, P<0.05$ )、血 Cr( $r=0.23, P<0.05$ )、FBG( $r=0.39, P<0.05$ )增

高而增加的趋势; 血浆 RBP4 与 BMI 有较弱的相关( $r=0.42, P<0.05$ )。

表 1 4 组生化检测结果( $\bar{x}\pm s$ )

| 项目                 | NC 组( $n=30$ ) | SDM 组( $n=46$ )         | EDN 组( $n=40$ )            | CDN 组( $n=29$ )              |
|--------------------|----------------|-------------------------|----------------------------|------------------------------|
| UAER(mg/d)         | 7.30±1.50      | 12.10±2.91              | 168.91±58.20 <sup>ab</sup> | 400.70±113.50 <sup>abc</sup> |
| FBG(mmol/L)        | 4.95±0.41      | 7.11±2.65 <sup>a</sup>  | 11.81±2.01 <sup>a</sup>    | 12.13±1.76 <sup>a</sup>      |
| HbA1c(%)           | 4.15±1.29      | 6.25±1.62 <sup>a</sup>  | 10.10±2.33 <sup>a</sup>    | 13.98±3.17 <sup>abc</sup>    |
| 血 Cr( $\mu$ mol/L) | 40.12±10.64    | 58.19±13.45             | 82.34±20.21 <sup>a</sup>   | 201.21±34.77 <sup>abc</sup>  |
| hs-CRP(mg/L)       | 2.27±0.82      | 6.76±1.76 <sup>a</sup>  | 8.39±4.01 <sup>ab</sup>    | 15.62±6.96 <sup>abc</sup>    |
| RBP4 ( $\mu$ g/mL) | 27.51±5.12     | 32.10±6.91 <sup>a</sup> | 43.20±8.11 <sup>ab</sup>   | 49.00±10.61 <sup>abc</sup>   |

注:与 NC 组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与 SDM 组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与 EDN 组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ 。

3 讨 论

RBP4 是一种新的与脂肪组织功能障碍相关的脂肪源性因子,由 Yang 等<sup>[1]</sup>2005 年在 T2DM 的小鼠模型中首次发现。RBP4 是主要在肝脏及脂肪组织表达的一种细胞因子。在脂肪组织表达量大约占 15%~20%。在血液中 RBP4 与转甲状腺素蛋白形成 78 000 的稳定复合物。转基因动物研究表明,过量表达 RBP4 可以诱导胰岛素抵抗,而敲除 RBP4 基因则胰岛素敏感性增加。脂肪组织是重要的内分泌器官,它释放瘦素、抵抗素、脂联素,改变其他器官脂肪的组织聚集和能量状态,改变了胰岛素的分泌和敏感性<sup>[2]</sup>。人体内脂肪细胞肥大以及腹部内脏的脂肪堆积,特别是内脏的脂肪细胞肥大时,其脂解作用加强,从而释放过多游离脂肪酸(FFA),进而抑制胰岛β细胞的分泌,并且降低肝细胞胰岛素受体对胰岛素的结合,抑制肌细胞葡萄糖转运蛋白 4(GLUT4)的活性;同时脂肪细胞肥大还将分泌过多脂肪细胞因子,参与胰岛素抵抗和 T2DM 的发生。GLUT4 是胰岛素敏感性靶组织进行葡萄糖转运的主要胞膜转运蛋白,它的表达和功能的改变可能涉及肌肉和脂肪细胞的胰岛素抵抗。本文资料显示:RBP4、hs-CRP 在 NC 组、SDM 组、EDN 组和 CDN 组递增,即随着 DN 的加重而升高;SDM 组亦明显高于健康对照组,而 UAER 则不然,提示对 DN 的早期诊断,RBP4、hs-CRP 优于 UAER,与文献<sup>[3-6]</sup>报道一致;且 RBP4 与 UAER 呈正相关性,说明 RBP4 可作为一项新指标用于肾病的诊断、治疗与预后。又 RBP4 和 hs-CRP 与 UAER 呈正相关性,说明 DN 是炎症、肾小管损害及肾小球损伤共同作用的结果;因此 RBP4 可作为肾脏疾病早期敏感的诊断指标;随着 RBP4 的升高,表明肾小管处于损害状态,是清蛋白尿的前奏<sup>[7-8]</sup>。

参考文献

[1] Yang O, Graham TE, Mody N, et al. Serum retinal binding protein 4 contributes to insulin resistance and type 2 diabetes[J]. Nature, 2005, 436(7049): 356-362.

[2] Trayhurn P, Beattie JH. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ[J]. Proc Nutr Soc, 2001, 60(3): 329-339.

[3] Isozaki M, Masubuchi Y, Horie T. Evaluation of drug-induced hepatotoxicity by plasma retinol binding protein [J]. In Vivo, 2002, 16(1): 61-65.

[4] 周芳,周宏灏,刘昭前. 视黄醇结合蛋白 4 遗传多态性与 2 型糖尿病的关系[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2008, 13(4): 452-456.

[5] 徐玲玲,肖新华,孙瑜,等. 视黄醇结合蛋白 4 与代谢综合征的关系[J]. 基础医学与临床, 2008, 28(7): 472-476.

[6] 潘琦,郭立新,蒋蕾,等. 新诊断 2 型糖尿病视黄醇结合蛋白 4 的变化及影响因素研究[J]. 中国实用内科杂志, 2008, 28(11): 937-939.

[7] 程灿,赵芳芳,王季猛. 视黄醇结合蛋白 4 与 2 型糖尿病微血管病变的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(2): 384-386.

[8] 王有根. 2 型糖尿病患者血清视黄醇结合蛋白 4 水平的临床意义[J]. 全科医学临床与教育, 2011, 8(6): 616-618.

(收稿日期:2012-11-21 修回日期:2013-02-12)

(上接第 2377 页)

参考文献

[1] 张卓然. 临床微生物学和微生物检验[M]. 北京:人民卫生出版社, 2004: 81.

[2] Ruppitsch W, Stöger A, Braun O, et al. Meticillin-resistant Staphylococcus aureus: occurrence of a new spa type in two acute care hospitals in Austria[J]. J Hosp Infect, 2007, 67(4): 316-322.

[3] 杨磊,张莲英. 姜黄素的抗癌作用及机制的研究进展[J]. 中华医学研究杂志, 2004, 4(7): 617-618.

[4] 钟益宁,甄汉深,滕建北,等. 姜黄素衍生物的合成、表征及其体外抗菌活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14

(2): 46-49.

[5] 李景云,许明哲,马越,等. 细菌耐药性监测数据处理软件 WHONET 5.3 简介[J]. 中华检验医学杂志, 2004, 27(11): 89-90.

[6] 童明庆. 临床检验病原微生物学[M]. 北京:高等教育出版社, 2006: 75.

[7] 李惠卿,刘秀忠,李贞洁. 金黄色葡萄球菌体外药物耐药性分析[J]. 河北医药, 2008, 30(2): 208-209.

[8] 王敏,范婧,李先平. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的临床分布及耐药性分析[J]. 广东医学, 2008, 29(8): 1321-1323.

(收稿日期:2013-01-14 修回日期:2013-02-18)