

抗血管收缩抑制交感神经反应,从而达到改善血容量和血压效应<sup>[4]</sup>。在临床应用中,血浆BNP浓度可作为评价心功能的敏感指标,是CHD心肌缺血和心功能严重程度的有效预测指标<sup>[5-6]</sup>。本研究结果提示,CHD患者血浆BNP水平明显高于对照组。ACS组合并DM者、SA组合并DM者、对照组之间BNP水平差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),但仅有ACS组非合并DM患者的BNP水平明显高于对照组。因此,监测BNP不论是对心功能的预测,还是对筛查CHD合并DM患者都有重要意义。DD可反映体内凝血酶和纤溶酶的改变<sup>[7-8]</sup>。本研究结果提示,CHD合并DM患者血浆DD的表达明显高于非合并DM患者;CHD组中DD水平明显高于对照组,且ACS组高于SA组( $P<0.05$ )。因此,DD可以作为无创伤性的体内血栓形成观察标志物<sup>[9]</sup>,也说明DM增加了CHD患者体内微小血栓形成的风险。

相关性分析发现,CHD合并DM组外周血中BNP和DD水平呈正相关( $r=0.729, P<0.05$ ),而CHD非合并DM组以及对照组血浆BNP和DD水平之间无相关性( $P>0.05$ )。提示这2个指标在CHD患者中表达是明显增加的,随着冠状动脉病变的恶化、DM微血管病变程度而逐渐增加,两者之间的变化呈正比。通过检测患者血浆BNP和DD水平,可以评估CHD合并DM患者体内心室结构、凝血状态的改变情况,有助于判断CHD合并DM的程度和预后。

本研究结果表明,BNP和DD水平在CHD中已经升高,在CHD合并DM中升高更明显,且BNP和DD具有一定程度的正相关性,2项指标联合检测可明显提高CHD合并DM的早期诊断率,有助于危险度分层,进而为指导治疗和判断预后提供客观依据,以防止心衰和微血管病变的加重及心血管事件的发生。

## 参考文献

[1] King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes,

### · 经验交流 ·

1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections[J]. Diabetes Care, 1998, 21(9): 1414-1431.

- [2] Bartnik M, Malmberg K, Hamsten A, et al. Abnormal glucose tolerance-a common risk factor in patients with acute myocardial infarction in comparison with population-based controls[J]. J Intern Med, 2004, 256(4): 288-297.
- [3] 中国心脏调查组. 中国住院冠心病患者糖代谢异常研究[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2006, 22(1): 7-10.
- [4] Tyrcinska AM, Sobkowicz B, Mroczko B, et al. the value of apelin-36 and brain natriuretic peptide measurements in patients with first ST-elevation myocardial infarction[J]. Clin Chim Acta, 2010, 411(23/24): 2014-2018.
- [5] 胡大一, 杨振华. B型钠尿肽的临床应用和最新进展[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2006: 29-72.
- [6] Yamashita T, Seino Y, Ogawa A, et al. N-terminal pro-BNP is a novel biomarker for integrated cardio-renal burden and early risk stratification in patients admitted for cardiac emergency[J]. J Cardiol, 2010, 55(3): 377-383.
- [7] Gosselin RC, Owings JT, Kehoe J, et al. Comparison of six D-dimer methods in patients suspected of deep vein thrombosis[J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2003, 14(6): 545-550.
- [8] Righini M, Perrier A, De Moerloose P, et al. D-Dimer for venous thromboembolism diagnosis: 20 years later[J]. J Thromb Haemost, 2008, 6(7): 1059-1071.
- [9] Hargett CW, Tapson VF. Clinical probability and D-dimer testing: how should we use them in clinical practice? [J]. Semin Respir Crit Care Med, 2008, 29(1): 15-24.

(收稿日期:2012-11-08)

## 五味消毒饮对MRSA临床株抗菌活性影响的实验研究\*

李忠新, 张春雷, 曾学辉, 李瑜珍, 蓝志明

(广州中医药大学附属深圳市中医院检验科, 广东深圳 518033)

**摘要:**目的 探讨五味消毒饮对甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌(MRSA)临床株生物膜形成及抗菌活性的影响。方法 用溴化乙啶吞噬作为细胞膜通透性指示剂评价五味消毒饮对MRSA细菌细胞膜的作用效果; 在0、50、100 mg/mL 3个不同质量浓度五味消毒饮与M-H琼脂混合培养基上用K-B法检测MRSA对不同抗菌药物的抑菌环直径。结果 含五味消毒饮生物膜培养液其荧光强度不同程度增强; MRSA敏感的抗菌药物在含五味消毒饮的培养基中比不含五味消毒饮的培养基中抑菌圈直径比不同程度增大, MRSA耐药的抗菌药物抑菌圈直径未发生改变。结论 五味消毒能在一定程度抑制细菌生物膜的形成, 并可能是通过改变细菌细胞膜通透性而影响细菌对抗菌药物的敏感性。

**关键词:**五味消毒饮; 甲氧西林; 金黄色葡萄球菌; 抗菌活性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.12.063

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2013)12-1613-03

部分中草药的活性成分能有效阻止细菌生物膜形成并能增强细菌对抗菌药物的敏感性<sup>[1-2]</sup>。五味消毒饮是经典的中药抗菌消炎名方, 主要由银花、野菊花、蒲公英、紫花地丁、紫背天葵五味中药组成, 其抗菌消炎的临床效果均非常显著<sup>[3]</sup>。本研究拟通过溴化乙啶摄入试验和琼脂纸片扩散(K-B)法探讨五

味消毒饮对甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌(MRSA)细菌生物膜形成及不同抗菌药物抗菌活性的影响。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

1.1.1 实验菌株 甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌(MRSA)菌

\* 基金项目: 深圳市科技立项资助项目(201003177)。

株分离自住院 ICU 患者的伤口分泌物经 Vitek-2 Compact 鉴定经平板生长观察证实为产生生物膜的 MRSA, 对抗菌药物的敏感性不同。将保存的试验菌株接种于 5% 血平板置 37 ℃ 培养 24 h, 连续转种培养 3 次。质控菌株为 ATCC 25922。

**1.1.2 培养基及抗菌药物药敏纸片** M-H 琼脂培养基、营养肉汤、小牛血清购自中国药品生物制品检定所。胰酪胨大豆肉汤(TSB)、脑心浸液琼脂及抗菌药物药敏纸片均购自英国 Oxoid 公司。溴化乙啶为国产分析物。

**1.1.3 实验药物** 实验用银花、野菊花、蒲公英、紫花地丁、紫背天葵等五味中药购于郑州瑞龙制药股份有限公司, 用中药粉碎机粉碎 100 g 后置于冰箱保存。

**1.1.4 实验仪器** Vitek-2 Compact 细菌鉴定仪购自 BI-OMERIELIX 公司; GSP-9270MBE 隔水式恒温培养箱购自上海博迅实业有限公司医疗设备厂; EYELA N-100IS 旋转蒸发仪为日本东京理化产品。

## 1.2 方法

**1.2.1 溴化乙啶摄入实验** 取 1 mL 0.5 麦氏浓度 MRSA 菌悬液与含 1 000 mg/mL 五味消毒饮混合, 以不加五味消毒饮的菌悬液作阴性对照, 置 37 ℃ 振荡培养 4 h, 每管孔加入 1 mg/mL 的溴化乙啶 100 μL, 室温孵育 15 min, 取 1 滴菌悬液置于电镜检下观察。

**1.2.2 五味消毒饮复方提取液的制备** 取粉碎好的银花 20 g, 野菊花、蒲公英、紫花地丁、紫背天葵各 15 g 粉末, 加水 1 000 mL, 浸泡 2 h, 强火加热至沸再以文火煎 60 min, 过滤, 收集滤液, 置于 4 ℃ 冰箱保存; 残渣加水 500 mL 浸泡 2 h, 再煎 60 min, 过滤, 合并 2 次滤液, 上清过滤, 旋转蒸发至 80 mL, 得到浓度为 1 g/mL 的中药原液, 高压灭菌后置 4 ℃ 冰箱保存备用。

**1.2.3 含五味消毒饮 M-H 培养基的制备** 用电子分析天平称提取物 100 mg, 用无菌蒸馏水(含 5% DMSO)配成 100 mg/mL 溶液作初筛用; 以浓度 1 000 mg/mL 的原溶液用布氏肉汤分别作倍比稀释, 即 1:2, 1:4, 分别将药物原液及上述倍比稀释的药液以每个平皿 2 mL 的量注入平皿, 然后按每个平皿 18 mL 的量倾入已融化、并于 50 ℃ 水浴中平衡的 M-H 琼脂, 混合制成不同浓度的五味消毒饮 M-H 琼脂平板(其药物的终浓度均为 100, 50, 0 mg/mL)。

**1.2.4 K-B 琼脂扩散法分析试验** 取新鲜 MRSA 培养物用无菌生理盐水将稀释为 0.5 麦氏浓度的菌悬液, 根据美国国家临床实验室标准委员会(CLSI)2012 版推荐的 K-B 法及结果判断标准进行药物敏感性试验, 用游标卡尺测量抑菌环直径并记录结果。

## 2 结 果

**2.1 溴化乙啶吞噬实验** 未经五味消毒饮作用过的菌悬液中仅见少量细菌细胞内有红色的荧光(图 1A), 五味消毒饮作用后的菌悬液中可见大量红色的荧光(图 1B)。

**2.2 不同浓度五味消毒饮作用的 MRSA 对不同抗菌药物抑菌作用效果** 见表 1。

表 1 MRSA 在不同浓度五味消毒饮 M-H 琼脂平板上的抑菌环结果(mm)

抗菌药物	0 mg/mL	50 mg/mL	100 mg/mL
万古霉素	20.0	21.0	23.0
头孢西丁林	6.0	6.0	6.0
替考拉宁	18.0	19.0	21.0
复方磺胺甲噁唑	27.0	28.0	29.5

续表 1 MRSA 在不同浓度五味消毒饮 M-H 琼脂平板上的抑菌环结果(mm)

抗菌药物	0 mg/mL	50 mg/mL	100 mg/mL
红霉素	6.0	6.0	6.0
环丙沙星	6.0	6.0	6.0
庆大霉素	6.0	6.0	6.0
氯霉素	19.0	20.0	22.0
克林霉素	6.0	6.0	6.0

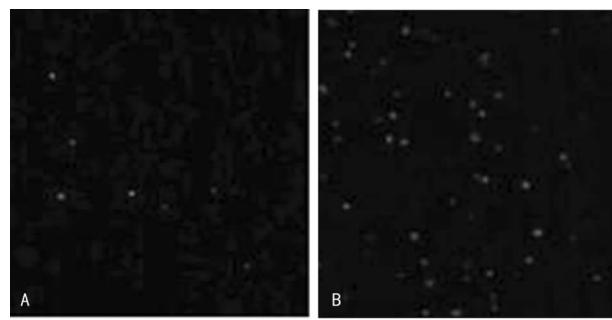


图 1 溴化乙啶吞噬实验

## 3 讨 论

金黄色葡萄球菌是引起临床感染首要的病原菌之一, 也是生物膜感染常见的病原菌。细菌生物膜是细菌在有害环境中自身分泌产生的胞外多聚基质藻酸盐多糖在相关表面形成的聚合体。这种由多聚基质形成的生物膜不仅极大降低细菌细胞的新陈代谢速度及细胞分裂的速度, 而且还能明显阻止许多抗菌药物向细菌内扩散, 使宿主免疫反应所产生的氧及某些药物代谢产生的氯也被外层生物膜灭活, 文献[4]报道, 生物膜可使细菌对抗菌药物折点增加 50~500 倍。此外生物膜内许多基因表达也会由于某些物理性质的改变而发生改变[5], 且生物膜一旦附着在医疗器械或机体感染部位的表面, 将很难将它们彻底消除, 因此所致的感染也很难控制。

细胞在有机体表面的黏附作用是细菌产生和形成细菌生物膜的前提条件, 有些中草药的成分可以抑制细菌细胞生物膜基质内肽聚糖的合成速度, 从而通过影响生物膜单位形成及生物膜形成单位的聚集来阻止生物膜相关感染[6]。

本研究所用的溴化乙啶是一种非膜通透性的化学药品, 当细菌结构完整时不能进入菌体, 因此不能使活的细菌发出荧光。只有当膜受到破坏时它才能进入细胞内与细胞膜内的 DNA 相结合发出高强度荧光, 根据这些特点用它作为细胞膜完整性的指示剂[7], 因此本实验设计用溴化乙啶摄入作为评价细胞膜完整性的评价标准。实验中经五味消毒饮作用后的细菌其荧光强度明显增加, 而未作用过的菌悬液只有很少的细菌发出荧光, 表明溴化乙啶的摄入量与五味消毒饮的作用有一定的相关性, 说明五味消毒饮抗菌作用机理可能与通过作用于细胞壁或细胞膜系统有关, 与孙京新等[8]报道的一致。

在假设五味消毒饮对细菌的作用部位在细胞膜基础上, 通过在不同浓度五味消毒饮 M-H 琼脂混合培养基上用 K-B 法进行 MRSA 对不同抗菌药物的敏感性, 对 MRSA 敏感的抗菌药物的敏感性随培养基中五味消毒饮的浓度不同而有所不同, 高浓度的五味消毒食能有效地增强 MRSA 对敏感抗菌药物的敏感性, 而 MRSA 耐药的抗菌药物抑菌圈直径未发生改变。笔者推测五味消毒饮可能非特异地增加了细菌细胞膜对某些化学成分包括抗菌药物的通透性, 非特异地通过破坏细菌细胞的完整性而增强细菌对部分抗菌药物的敏感性[9~10]。

## 参考文献

- [1] 张显忠, 郭爱军, 李艳玲, 等. 中草药提取物的体外抑菌活性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 16(5): 563-565.
- [2] 王汉敏, 陈林娜, 周立勤, 等. 电镜下观察中药制剂对耐药菌株的抑菌作用[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(1): 84-86.
- [3] 张春雷, 李忠新, 李瑜珍, 等. 五味消毒饮联合红霉素对 MRSA 生物膜作用的初步研究[J]. 热带医学杂志, 2011, 11(2): 175-177.
- [4] Akiyama H, Oono T, Huh WK, et al. Actions of farnesol and xylytol against *Staphylococcus aureus* [J]. Chemotherapy, 2002, 48(3): 122-128.
- [5] Davies DG, Chakrabarty AM, Geesey GG. Exopolysaccharide production in biofilms: substratum activation of alginate gene expression by *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Appl Environ Microbiol, 1993, 59(4): 1181-1186.
- [6] Koo H, Hayacibara MF, Schobel BD, et al. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm accumulation and polysaccharide production

## • 经验交流 •

## 某院念珠菌尿感染状况及尿沉渣结果分析

罗晓群, 李震乾, 谭智毅

(佛山市第一人民医院, 广东佛山 528000)

**摘要:** 目的 分析念珠菌尿感染的相关因素, 并对该院尿沉渣结果进行分析, 对临床正确解读念珠菌尿患者的尿液分析结果作出合理的临床诊治提供依据。方法 对 2010~2011 年门诊、住院患者尿沉渣镜中检出念珠菌的患者进行临床和尿沉渣结果回顾性分析。结果 念珠菌尿阳性共 389 例, 其中门诊患者 207 例、住院患者 182 例, 女性总阳性率 68.1%。门诊、住院患者念珠菌阳性率均与其基础病有关; UF-500i 尿液有形成分全自动分析仪中检测尿沉渣红细胞(RBC)结果与镜检结果之间差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )。结论 念珠菌感染与患者基础疾病及抗生素使用情况有关; 尿中念珠菌对全自动尿沉渣分析仪的 RBC 检测结果有影响, 应结合镜检结果排除假阳性, 以提高红细胞检测的灵敏度和特异度。

**关键词:** 念珠菌; 尿沉渣; 红细胞**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.12.064**文献标识码:**B**文章编号:** 1673-4130(2013)12-1615-02

尿路感染是泌尿系统的常见病、多发病, 也是院内感染的高发病。导尿及留置尿管的患者往往会出现尿路感染, 同时也增加了患者的痛苦, 使患者住院时间延长、住院费用增加<sup>[1]</sup>。念珠菌成为引起尿路感染的主要病原菌, 值得临幊上给予更多的关注和重视。

**1 资料与方法**

**1.1 一般资料** 2010~2011 年本院门诊、住院尿沉渣念珠菌检测阳性的患者 389 例, 其中门诊患者 207 例、住院患者 182 例。

**1.2 方法** 采用回顾性分析方法, 对尿中念珠菌阳性的患者的相关临床资料进行调查分析。随机留取门诊和住院患者新鲜的标本, 2 h 内用 UF-500i 尿液有形成分全自动分析仪检测尿沉渣, 然后取尿 10 mL 离心 5 min, 弃上清液, 留取混匀沉渣物 20 μL, 滴入载玻片上高倍镜检查红细胞(RBC)、白细胞(WBC)、上皮细胞。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS12.0 软件进行统计学处理, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1** 389 例念珠菌阳性尿液标本相关临床资料的调查结果 门诊、住院患者念珠菌阳性率与患者的基础疾病有关, 其中门诊以妇科患者居多, 而住院患者以 ICU 患者为主, 女性总阳性率 68.1%, 对门诊妇科尿液念珠菌阳性率偏高的患者, 对其复检阴道分泌物, 发现真菌阳性者 61 例, 总阳性率 67.78%。见表 1。

by apigenin and tt-farnesol[J]. J Antimicrob Chemother, 2003, 52(5): 782-789.

- [7] Brehm-Stecher BF, Johnson EA. Sensitization of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* to antibiotics by the sesquiterpenoids nerolidol, farnesol, bisabolol, and apritone[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(10): 3357-3360.
- [8] 孙京新, 王文娟. 茶多酚对假单胞菌机理研究[J]. 肉类工业, 2010(1): 35-38.
- [9] Wu D, Kong Y, Han C, et al. D-Alanine:D-alanine ligase as a new target for the flavonoids quercetin and apigenin[J]. Intern J Antimicrob Agents, 2008, 32(5): 421-426.
- [10] Xu J, Zhou F, Ji BP, et al. The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*[J]. Lett Appl Microbiol, 2008, 47(3): 174-179.

(收稿日期: 2013-01-12)

**表 1 易引起尿路念珠菌感染的危险因素**

临床资料	门诊患者		住院患者	
	阳性(n)	阳性率(%)	阳性(n)	阳性率(%)
妇科疾病	90	43.48	2	1.10
ICU	0	0.00	68	37.36
糖尿病	34	16.43	18	9.89
慢性肾炎	27	13.04	20	10.99
泌尿系感染	30	14.49	23	12.64
留置导管	8	3.87	38	20.88
其他疾病	18	8.70	13	7.14

**2.2 尿沉渣的检测结果** 分别用 UF-500i 尿液有形成分全自动分析仪和镜检 2 种方法检测尿沉渣 3 项指标。WBC 和上皮细胞结果差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); RBC 检测结果之间差异有统计学意义( $P < 0.01$ ), 见表 2。

**表 2 2 种方法检测尿沉渣的结果比较**

方法	RBC(/μL)	WBC(/μL)	上皮细胞(/μL)
UF-500i	22±5.1*	15±4.4	8±3.1
镜检	14±4.3	14±5.1	9±3.9

\*:  $P < 0.01$ , 与镜检结果比较。**3 讨 论**

对门诊、住院患者念珠菌尿路感染的危险因素分析结果显示, 念珠菌阳性率与以下因素有密切关系:(1)患者有严重的基