

• 经验交流 •

# 复方三黄液对 60 株骨科分离金黄色葡萄球菌体外抑菌效果研究<sup>\*</sup>

郭庆昕<sup>1</sup>, 陈长贤<sup>2</sup>, 陈晋兰<sup>3</sup>, 钟黎鹃<sup>4</sup>, 饶华春<sup>1</sup>, 周晓兰<sup>2</sup>

(福建中医药大学附属泉州市正骨医院: 1. 检验科; 2. 脊柱科; 3. 制剂室; 4. 小儿骨科, 福建泉州 362000)

**摘要:**目的 了解复方三黄液对金黄色葡萄球菌的体外抑菌效果, 为临床应用提供实验室依据。方法 采用肉汤稀释法, 以复方三黄液为抑菌药, 观察其对骨科感染分离出的 60 株金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓度 (MBC)。结果 42 株 MSSA 中 32 株 MIC 为 7.8  $\mu\text{g/mL}$ , 10 株 MIC 为 15.6  $\mu\text{g/mL}$ ; 18 株 MRSA 中 14 株 MIC 为 7.8  $\mu\text{g/mL}$ , 4 株 MIC 为 15.6  $\mu\text{g/mL}$ 。MRSA 组均值为 9.6  $\mu\text{g/mL}$ , MSSA 均值为 9.5  $\mu\text{g/mL}$ 。结论 复方三黄液对金黄色葡萄球菌体外抑菌效果明显, 并能避免耐药菌的产生。

**关键词:**三黄液; 金黄色葡萄球菌; 体外抑菌效果  
**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.13.051 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2014)13-1781-02

近年来, 由于抗菌药物的广泛使用, 很多细菌产生了不同程度的耐药性。祖国传统医学博大精深, 许多中药具有抗菌作用, 其作用机制特殊, 不易产生耐药性。因此, 中药抗菌已逐步成为研究的热点<sup>[1-5]</sup>。泉州市正骨医院传承了南少林“医武结合”的文化理念, 先辈们在长期的医疗实践中研制出许多疗效显著的自制药, 其中骨髓炎外用液 (复方三黄液) 是一剂有效的抗感染中药制剂。本试验采用肉汤稀释法, 以复方三黄液为抑菌药, 观察其对骨科感染分离出的 60 株金黄色葡萄球菌的体外抑菌效果, 为该药的临床应用提供实验室依据。

## 1 材料与方法

**1.1 实验菌株** 60 株实验用金黄色葡萄球菌, 来自于 2011 年 1 月至 2012 年 7 月本院门诊和住院的收治的骨科感染患者, 采集伤口分泌物或脓液接种血平板、麦康凯平板, 分离出的细菌按照第三版《全国临床检验操作规程》进行鉴定。采用 K-B 法进行药敏试验, 其中分离菌头孢西丁抑菌圈直径小于或等于 21 mm 判定为耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA), 头孢西丁抑菌圈直径大于或等于 22 mm 判定为甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌 (MSSA)<sup>[6]</sup>。金黄色葡萄球菌标准菌株 ATCC25923 购自杭州天和微生物试剂有限公司。

**1.2 实验药液** 取黄连、黄柏、黄芩等中药共计 180 g 混和, 加入 5 倍量无菌蒸馏水, 浸过中药液面, 放置 4  $^{\circ}\text{C}$  水箱内 24 h 后, 以文火煮沸 30 min, 过滤出药液备用; 取药渣继续加 5 倍量蒸馏水, 文火煮沸 30 min 后, 再次过滤出药液。将两次过滤药液混合, 在文火上浓缩至 180 mL, 相当于原生药 1 000  $\mu\text{g/mL}$ 。将中药原液调配为 pH 值 7.6 后, 121  $^{\circ}\text{C}$  15 min 高压蒸气灭菌后即实验备用液, 冰箱 4  $^{\circ}\text{C}$  保存, 储存时间不超过 7 d<sup>[7]</sup>。

**1.3 方法** 将待检菌株分别接种于血琼脂平板, 35  $^{\circ}\text{C}$  培养 24 h, 取无菌小试管 12 支, 分别编 1~12 号, 每管中均加入 1 mL 灭菌肉汤, 在第 1 号管中加入待试药 1 mL, 混匀后吸取 1 mL 加至第 2 号管中, 同法稀释至第 10 号管, 第 10 号管混匀后弃去 1 mL, 第 11 号管为阳性对照, 第 12 号管为阴性对照。第 1 管~11 管分别加入  $10^5\sim10^6$  cfu/mL 的菌液 0.05 mL。35  $^{\circ}\text{C}$  培养箱中培养 18~24 h 后观察结果, 阳性对照管第 11 管有细菌生长, 阴性对照第 12 管无细菌生长, 实验方为有效。以能抑制细菌生长的药物最低浓度作为该药对该菌的最小抑菌浓度

(MIC)。在 MIC 实验基础上从无菌生长的各管取材分别涂布于相应的琼脂平板培养基上, 于 35  $^{\circ}\text{C}$  的恒温培养箱培养 18~24 h, 观察结果。琼脂平板上无细菌生长而含原生药量最少的一管, 即为该种药物对该菌株的最小杀菌浓度 (MBC)。

**1.4 质量控制** 每批实验同时检测金黄色葡萄球菌标准菌株 ATCC25923 的抑菌效果, 以第 6 管相当 15.6  $\mu\text{g/mL}$  原生药有明显抑菌本批实验方有效。

## 2 结果

**2.1** 60 株引起骨科感染的金黄色葡萄球菌中 42 株为甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌 (MSSA), 18 株为耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA), 两组测试菌对 14 种抗菌药物的敏感率见表 1。其中 18 株 MRSA 对利奈唑胺、万古霉素敏感率为 100.00%, 对  $\beta$ -内酰胺类、庆大霉素、红霉素、克林霉素等抗菌药物敏感率低或无效, 见表 1。

表 1 MRSA 和 MSSA 对 14 种抗菌药物的敏感率统计

抗菌药物	MRSA (n=18)		MSSA (n=42)	
	敏感数 (n)	敏感率 (%)	敏感数 (n)	敏感率 (%)
青霉素	0	0.00	5	11.90
苯唑西林	0	0.00	42	100.00
头孢唑啉	0	0.00	39	92.86
头孢曲松	0	0.00	38	90.48
红霉素	0	0.00	12	28.57
克林霉素	0	0.00	16	38.10
氯霉素	0	0.00	36	85.71
利奈唑胺	18	100.00	42	100.00
庆大霉素	0	0.00	35	83.33
左氧氟沙星	2	11.11	32	76.19
环丙沙星	2	11.11	31	73.81
万古霉素	18	100.00	42	100.00
多西霉素	5	27.78	38	90.48
利福平	5	27.78	39	92.86
复方磺胺甲噁唑	6	33.33	35	83.33

**2.2** 复方三黄液对 60 株金黄色葡萄球菌抑菌效果明显, 其中 42 株 MSSA 中 32 株 MIC 为 7.8  $\mu\text{g/mL}$ , 10 株 MIC 为 15.6  $\mu\text{g/mL}$ ; 18 株 MRSA 中 14 株 MIC 为 7.8  $\mu\text{g/mL}$ , 4 株 MIC 为 15.6  $\mu\text{g/mL}$ 。MRSA 组均值为 9.6  $\mu\text{g/mL}$ , 标准差 3.32;

<sup>\*</sup> 基金项目: 丰泽区科教兴区重点资助项目 (FZ2011 07)。

MSSA 均值为 9.5  $\mu\text{g/mL}$ , 标准差 3.29; 两组数据经  $t$  检验,  $P$  值为 0.89, 差异无统计学意义。复方三黄液对 60 株金黄色葡萄球菌无直接杀菌作用, 见表 2。

表 2 复方三黄液对 MRSA 和 MSSA 的 MIC

项目	MSSA		MRSA	
	14	4	32	10
MIC( $\mu\text{g/mL}$ )	7.8	15.6	7.8	15.6
均值	9.6		9.5	
标准差	3.32		3.29	

3 讨 论

金黄色葡萄球菌是骨科感染最常见的病原菌之一<sup>[8-9]</sup>, 因其产生多种毒素和酶, 致病力在葡萄球菌中最强。近年来, MRSA 引起的感染不断增多, 由表 1 可见 MRSA 对所有  $\beta$ -内酰胺类抗菌药物耐药, 甚至累及到大环内酯类、喹诺酮类和氨基糖苷类等抗菌药物, 仅对万古霉素、利奈唑胺保持高度敏感, 但因这两种抗菌药物价格昂贵, 不良反应大, 因此该菌已成为骨科抗感染治疗相当棘手的问题。复方三黄液中黄连、黄柏、黄芩等富含小檗碱、黄芩苷、黄芩素等有效抗菌成分, 有研究表明, 以上有效抗菌成分若与抗菌药物联用可作为“抗菌增敏剂”, 能有效逆转耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抗药性<sup>[6]</sup>。

本试验研究发现, 复方三黄液对 MRSA 和 MSSA 的 MIC 均值分别为 9.6  $\mu\text{g/mL}$ 、9.5  $\mu\text{g/mL}$ , 低于田应彪等<sup>[10]</sup>报告的单味中药黄连、黄柏、黄芩 MIC 值分别为 15.6  $\mu\text{g/mL}$ 、15.6  $\mu\text{g/mL}$ 、31.3  $\mu\text{g/mL}$  的结果, 这与复方制剂中多种有效抑菌成分协同作用有关, 因复方三黄液中含多种中药, 在抗菌过程中能持续释放出多种有效的抗菌成分, 对金黄色葡萄球菌具有强大的抗菌作用。实验结果显示该复方三黄液对 18 株 MRSA 与 42 株 MSSA 的 MIC 值相当, 这可能与复方三黄液中黄芩苷、黄芩素等有效抑菌成分对青霉素结合蛋白(PBP2a) 的产生有显著抑制作用, 可通过抑制 *mecA* 基因的表达逆转 MRSA 的耐药<sup>[11]</sup>。

• 经验交流 •

脑梗死患者血清同型半胱氨酸和 S100 $\beta$  的检测及意义<sup>\*</sup>

饶亚华, 蒋 冰, 陈 馨<sup>△</sup>

(武汉市第一医院检验科, 湖北武汉 430022)

**摘 要:**目的 探讨同型半胱氨酸(Hcy)和中枢神经特异蛋白(S100 $\beta$ )在脑梗死患者中的表达水平及临床意义。方法 随机选择脑梗死患者 94 例, 健康对照组 94 例, 测定各组的 Hcy、S100 $\beta$  水平, 并进行统计学分析比较。其中按照病情程度分为重度(22 例)、中度(35 例)和轻度(37 例)。按照梗死面积大小分为大面积梗死(27 例)、中面积梗死(24 例)和小面积梗死(43 例)。**结果** 重、中度脑梗死组血清 Hcy、S100 $\beta$  水平均显著高于轻度脑梗死组( $P<0.05$ )。重度脑梗死组血清 Hcy、S100 $\beta$  水平高于中度脑梗死组( $P<0.05$ )。大、中面积脑梗死组 Hcy、S100 $\beta$  水平显著高于小面积脑梗死组( $P<0.05$ )。大面积脑梗死患者血清 Hcy、S100 $\beta$  水平高于中面积脑梗死患者( $P<0.05$ )。**结论** 脑梗死患者血清中存在着 Hcy、S100 $\beta$  水平的变化, 并可能成为评估病情程度及预后的指标。

**关键词:** 脑梗死; 同型半胱氨酸; 中枢神经特异蛋白

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.13.052

**文献标识码:**B

**文章编号:**1673-4130(2014)13-1782-03

脑卒中是全球第二大死因和成人后天获得性致残的最常见原因<sup>[1]</sup>。脑梗死(cerebral infarction, CI)也称为缺血性脑卒

体外抑菌效果研究表明, 复方三黄液对金黄色葡萄球菌抑菌效果明显, 并能避免耐药菌的产生, 可作为治疗金黄色葡萄球菌引起的骨科感染, 若能在全院范围内推广, 对控制抗菌药物使用量和减少多重耐药菌的产生有重要意义。

参考文献

[1] 张丽娟, 张贵君, 李仁伟. 金莲花蛋白超声提取工艺优化及其抑菌活性的初步测定[J]. 天津中医药, 2007, 24(1): 63-65.  
[2] 李仲兴, 王秀华, 赵建宏, 等. 连翘对金黄色葡萄球菌及表皮葡萄球菌的体外抗菌活性研究[J]. 天津中医药, 2007, 24(4): 328-331.  
[3] 李仲兴, 王秀华, 孟晓洁, 等. 五倍子水煎剂对 100 株溶血葡萄球菌等 CNS 的体外抗菌活性观察[J]. 天津中医药, 2004, 21(5): 411-413.  
[4] 罗萍, 孙小燕, 荆迎军, 等. 东亚飞蝗甲壳素提取条件的优化及衍生物壳聚糖抑菌活性研究[J]. 天津中医药大学学报, 2013, 32(1): 94-97.  
[5] 张晓燕, 汪选斌, 王林海, 等. 前愈汤剂体外抗菌实验研究[J]. 天津中医药, 2008, 25(1): 94-97.  
[6] 孙长贵译. CLSI 抗菌药物敏感性试验执行标准[M]. 21 版. 信息增刊, 2011.  
[7] 黄龙, 康绍建. 不同灭菌方式对三黄药材灭菌效果及质量影响的考察[J]. 云南中医中药杂志, 2011, 31(1): 51-54.  
[8] 赵建萍, 李国雄. 骨科感染标本的病原学分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(1): 135-136.  
[9] 敖沸, 王斌, 彭小龙, 等. 骨科术后切口感染病原菌的分布与耐药性分析[J]. 赣南医学院学报, 2007, 21(6): 883-884.  
[10] 田应彪, 陈泽慧, 杨名慧, 等. 16 种中药水煎液对 MRSA 和 MSSA 体外抑菌试验观察[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(8): 897-899.  
[11] 陈勇川, 谢林利, 熊丽蓉, 等. 黄芩苷/黄芩素对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌抗药性的逆转作用研究[J]. 中国药房, 2008, 19(9): 644-646.

(收稿日期: 2014-02-08)

<sup>\*</sup> 基金项目: 武汉市卫生局科研课题(WX12C29)。 <sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: chenxin831@163.com。