

• 论 著 •

# 五味子对产金属 β-内酰胺酶鲍曼不动杆菌的体外抗菌作用研究

李艳红<sup>1</sup>, 张景皓<sup>2#</sup>, 李 巍<sup>1</sup>, 季 萍<sup>1△</sup>

(1. 新疆医科大学第一附属医院医学检验中心, 新疆 乌鲁木齐 830054,  
2. 上海复旦大学附属华东医院检验科, 上海 200040)

**摘 要:**目的 研究五味子对鲍曼不动杆菌, 包括产金属 β-内酰胺酶(MBL)细菌和不产 MBL 鲍曼不动杆菌的体外抗菌作用。方法 对临床分离的 75 株鲍曼不动杆菌进行初步筛选, 然后对这些菌株进行产 MBL 确证试验; 检测 75 株鲍曼不动杆菌对 14 种抗菌药物的耐药情况; 采用体外抑菌试验检测五味子水煎液对 75 株鲍曼不动杆菌(包括产 MBL 和不产 MBL 鲍曼不动杆菌)的 MIC。结果 结果 MBL 确证试验表明筛选出的 50 株菌株中, 有 38 株阳性, 占试验菌株的 76%(38/50)。结论 五味子对鲍曼不动杆菌, 特别是产 MBL 酶的鲍曼不动杆菌有一定的抑菌作用, 可以将西药与五味子联合应用在抗鲍曼不动杆菌的治疗中。

**关键词:**五味子; 鲍曼不动杆菌; 金属 β-内酰胺酶

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.03.008 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2015)03-0306-02

## Antibacterial activity of Schisandra to metallo-β-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* in vitro

Li Yanhong<sup>1</sup>, Zhang Jinghao<sup>2#</sup>, Li Wei<sup>1</sup>, Ji Ping<sup>1△</sup>

(1. Center for Clinical Laboratory, the first Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Xinjiang Urumqi 830054, China;  
2. Department of Clinical Laboratory, Huadong Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200040, China)

**Abstract:**Objective To investigate the antibacterial activity of Schisandra to *Acinetobacter baumannii* including metallo-β-lactamase(MBL)-producing and non-MBL-producing strains in vitro. **Methods** 75 strains of *Acinetobacter baumannii* were preliminary screened for clinical isolates of MBL-producing strains, to which confirmatory tests of MBL producing were performed. Drug sensitivities of the *Acinetobacter baumannii* to 14 antibacterial drugs were tested. In vitro antibacterial tests was adopted to determine the MIC of schisandra to 75 strains of *Acinetobacter baumannii*(including MBL and non-MBL-producing *Acinetobacter baumannii*). **Results** MBL confirmatory test showed that among the 50 strains selected 38 strains were positive accounted for 76% (38/50). **Conclusion** Schisandra has some antibacterial effect on *Acinetobacter baumannii* especially MBL-producing *Acinetobacter baumannii*, and can be combined with western medicine in the treatment of *Acinetobacter baumannii* infection.

**Key words:**Schisandra; *Acinetobacter baumannii*; metallo-β-lactamase

鲍曼不动杆菌是目前临床上较为常见的条件致病菌, 研究表明其耐药性尤其是对碳青霉烯类抗菌药物的耐药性近年来增加迅速<sup>[1]</sup>, 甚至出现了仅对多黏菌素敏感而对其他抗菌药物均耐药的菌株<sup>[2]</sup>, 然而现代药理研究表明, 五味子在诸多方面都有较好的效果, 如兴奋中枢神经系统、镇咳祛痰、强心、降低转氨酶水平、抗菌、抗衰老、抗病毒、兴奋平滑肌和促进代谢等<sup>[3]</sup>。本研究选取了 75 株从临床标本分离得到的鲍曼不动杆菌作为研究对象, 对五味子的抑菌作用进行了研究; 使用了 14 种抗菌药物对产金属 β-内酰胺酶(MBL)和非产 MBL 的菌株进行了体外抑菌试验; 旨在为临床用药提供依据。

### 1 材料与方法

**1.1 菌株来源** 25 株敏感的鲍曼不动杆菌分离自来自新疆乌鲁木齐市儿童医院的临床送检标本; 50 株多重耐药的鲍曼不动杆菌分离自新疆医科大学第一附属医院医学检验中心的临床标本。上述临床标本为 2013 年 3~10 月门诊和住院患者留取的各种标本, 其中痰液标本的 43 例, 尿液 13 例, 分泌物 9 例, 血液 6 例, 腹水 3 例, 脑脊液 2 例。

**1.2 仪器与试剂** 使用的仪器主要包括生物梅里埃公司 Vitek-2 Compact 细菌鉴定仪及配套比浊仪、SHINVALMQ-R 全自动立式灭菌器(购自山东新华医疗器械股份有限公司), Sanyo 公司 NUS430 型生物安全柜、DHP-500 型电热恒温培养箱(北京市乐光明医疗仪器厂)。肉汤培养基由本中心自行配

制。药敏纸片均购自英国 Oxoid 公司; 阴性鉴定卡 GN09、阴性药敏卡 AST-GN09 均购自生物梅里埃公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 细菌鉴定** 试验所用菌株均经生物梅里埃公司 Vitek-2 Compact 细菌鉴定仪鉴定到种; 标准菌株为大肠埃希菌 ATCC25922。

**1.3.2 中药水煎液的制备** 取五味子中药材 100 g, 加水 1~2 L, 浸泡 30 min 后煎煮, 煮沸后文火煎 30 min, 经 100 目筛网过滤, 相当于生药 1 g/mL, 灭菌后, -20℃ 冰箱保存备用。

**1.3.3 MBL 检测** 从 75 株鲍曼不动杆菌中选出产 MBL 和不产 MBL 的菌株。参照文献<sup>[3]</sup>, 采用头孢他啶、亚胺培南、头孢他啶+EDTA、亚胺培南+EDTA 双纸片法测定这四种纸片的抑菌环直径。加入 EDTA 的量均为 10 μL, 物质的量浓度为 500 mmol/L。头孢他啶+EDTA 与头孢他啶或亚胺培南+EDTA 与亚胺培南抑菌环直径之差大于或等于 5 mm 者为 MBL 确证试验阳性。

**1.3.4 五味子体外抑菌试验** 采用 2 倍稀释法进行体外抑菌试验<sup>[4]</sup>。将收集菌种复苏, 配制 0.5 麦氏单位菌悬液, 取试管 750 支, 分为 75 组, 10 支/组。分别向各试管中加入 1 mL 肉汤培养基, 再向每组第 1 支试管中加入 1 mL 五味子水煎液, 混匀, 倍比稀释至第 9 管, 即第 1~9 支试管(试验组)中的五味子水煎液浓度依次为 0.500、0.250、0.125、0.063、0.032、0.016、

0.008、0.004、0.002 g/mL。第 10 支试管不加五味子水煎液（只加入肉汤培养基）作为阳性对照组。75 组试管中每支加入 100  $\mu$ L 细菌悬液。另取 5 支试管，只加 1 mL 五味子水煎液作为阴性对照组。将试管置于 37  $^{\circ}$ C 温箱，培养 24 h，次日观察试验组和对照组检测结果。结果判定按照 2010 年美国临床实验室标准化协会（CLSD）标准执行。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析，组间比较选用配对资料  $\chi^2$  检验， $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 MBL 的检测 从 75 株鲍曼不动杆菌挑选 50 株多重耐药产 MBL 的菌株做 MBL 确证试验，阳性菌株占 76%（38/50）。

2.2 产 MBL 和非产 MBL 菌株对抗菌药物的耐药情况 见表 1。

表 1 产 MBL 和非产 MBL 菌株对 14 种抗菌药物耐药情况

药物名称	非产 MBL 菌株(n=25)		产 MBL 菌株(n=50)	
	耐药株(n)	耐药率(%)	耐药株(n)	耐药率(%)
氨曲南	15	60	41	82
哌拉西林	0	0	30	60
环丙沙星	0	0	33	71
庆大霉素	0	0	38	66
头孢唑啉	22	88	47	94
头孢吡肟	0	0	31	62
哌拉西林/他唑巴坦	0	0	32	64
头孢他啶	1	4	29	58
亚胺培南	0	0	36	72
氨苄西林	22	88	50	100
复方磺胺甲噁唑	2	8	34	68
头孢哌酮/舒巴坦	0	0	27	54
左旋氧氟沙星	0	0	23	46
头孢曲松	20	80	50	100

2.3 五味子体外最小抑菌浓度（MIC） 观察试管，阳性对照组试管浑浊，说明有细菌生长，用“+”表示；阴性对照组试管清亮，说明无细菌生长，用“-”表示。五味子对鲍曼不动杆菌的 MIC 为 0.016 g/mL，见表 2。

表 2 五味子对鲍曼不动杆菌的抑菌结果

检测标本	试管编号								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
鲍曼不动杆菌	-	-	-	-	-	+	+	+	+
非产 MBL 鲍曼不动杆菌	-	-	-	-	-	+	+	+	+
产 MBL 鲍曼不动杆菌	-	-	-	-	-	+	+	+	+

+：有细菌生长；-：无细菌生长。

3 讨 论

鲍曼不动杆菌是一种革兰阴性杆菌，与人类健康有密切关系，是社区获得性感染的主要细菌之一<sup>[5-6]</sup>。这种细菌是重要的院内感染病原体，可出现在肺炎，血液病，伤口感染，脑膜炎等患者中<sup>[7-8]</sup>。在过去的 10 年中，鲍曼不动杆菌出现多重耐药的概率也在逐年增加<sup>[9-10]</sup>。因此，对其耐药性的研究也越来越多。本研究用五味子对产 MBL 和非产 MBL 的鲍曼不动杆菌进行了体外抑菌试验，旨在为临床用药提供参考。

我国中医药历史悠久，经研究发现，传统中药有清热解毒、抗菌等作用<sup>[11-13]</sup>且具有相对安全、不良反应小、价格低廉、不易产生耐药等优点，在抗感染治疗中存在巨大的开发潜力。本试验在前人研究的基础上进行了进一步研究，通过体外抑菌试验发现五味子水煎液对鲍曼不动杆菌的 MIC 为 0.016 g/mL。产 MBL 的鲍曼不动杆菌占所研究细菌株数的 76%。虽然本研究表明五味子对产 MBL 的鲍曼不动杆菌有一定的抗菌作用，但其在体内的抑菌效果究竟如何尚有待研究，还需要进一步分析并提取五味子的抗菌活性成分，进行体内实验，从而高效地应用于临床产 MBL 鲍曼不动杆菌感染的治疗。

由于多重耐药菌株的大量产生，导致临床抗菌药物治疗失败，本研究尝试采用一种中药——五味子来进行体外抗菌试验。五味子具有资源丰富、价格低廉、不良反应小等优点。将中药和西药在抗感染治疗中进行联合应用可以最大限度地发挥中药在临床抗菌治疗过程中的优势。本研究显示，五味子对产和非产 MBL 的鲍曼不动杆菌均有不同程度的抑菌作用。

参考文献

[1] 于亮,王梅,李玉臣,等. 2007~2010 年泰安医院临床主要病原菌分布及两种主要非发酵菌的耐药分析[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2011,5(16):4766-4769.

[2] 杨莉,韩立中,孙景勇,等. 多重耐药鲍曼不动杆菌中仅黏菌素敏感菌株的分子流行病学研究[J]. 中华医学杂志,2006,86(9):592-595.

[3] 可成友,康宏玲,高珍,等. 北五味子主要成分测定方法的研究进展[J]. 中国卫生检验杂志,2007,17(4):754-756.

[4] 陈泽慧,田应彪,李丹丹,等. 五味子、石榴皮等中药对鲍曼不动杆菌体外的抑菌作用[J]. 中国医院药学杂志,2011,31(15):1248-1251.

[5] 张景皓,肖明霞,季萍,黄芩、黄连、五味子对 5 种多重耐药菌抑菌作用的实验研究[J]. 新疆医学,2012,42(2):4-7.

[6] Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen[J]. Clin Microbiol Rev, 2008, 21(3):538-582.

[7] Kempf M, Rolain JM. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options[J]. Int J Antimicrob Agents, 2012, 39(2):105-114.

[8] Kim BN, Peleg AY, Lodise TP, et al. Management of meningitis due to antibiotic-resistant *Acinetobacter* species[J]. Lancet Infect Dis, 2009, 9(4):245-255.

[9] Luna CM, Aruj PK. Nosocomial *acinetobacter pneumonia*[J]. Respirology, 2007, 12(6):787-791.

[10] Oteo J, Garcia-Estébanez C, Migueláñez S, et al. Genotypic diversity of imipenem resistant isolates of *Acinetobacter baumannii* in Spain[J]. J Infect, 2007, 55(3):260-266.

[11] Rolain JM, Roch A, Castanier M, et al. *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin with impaired virulence; a case report from France[J]. Infect Dis, 2011, 204(7):1146-1147.

[12] Almeida AA, Farah A, Silva DA, et al. Antibacterial activity of coffee extracts and selected coffee chemical compounds against enterobacteria[J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(23):8738-8743.

[13] 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(11):897-899.