

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.20.010

连翘提取物联合头孢他啶的体外抑菌作用*

龚春燕, 毛成健[△], 敖华蓉, 胡大军, 张永峰

(湖北省宜昌市第二人民医院, 湖北 宜昌 443002)

摘要:目的 探讨连翘提取物联合头孢他啶的体外抑菌效果。方法 采用滴定法测定连翘提取物对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌的最低抑菌浓度(MIC);分别选取 0.125, 0.25, 0.5 倍 MIC 的连翘提取物溶液作为供试品,测定头孢他啶纸片的抑菌环直径。结果 连翘提取物联合头孢他啶作用下的抑菌环直径大于头孢他啶单用的抑菌环直径;且在 3 株产超广谱 β 内酰胺酶(ESBL)大肠埃希菌中,连翘提取物联合头孢他啶作用下的抑菌环直径均大于头孢他啶与棒酸作用下的抑菌环直径。结论 连翘提取物联合头孢他啶可增强头孢他啶对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌的体外抑菌作用。

关键词:连翘提取物;头孢他啶;抑菌作用;体外;金黄色葡萄球菌;大肠埃希菌;铜绿假单胞菌

中图分类号:R932;R285.5

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)20-0034-03

In Vitro Antibacterial Effect of Forsythiae Fructus Extract Combined with Ceftazidime

GONG Chunyan, MAO Chengjian, AO Huarong, HU Dajun, ZHANG Yongfeng

(The Second People's Hospital of Yichang, Yichang, Hubei, China 443002)

Abstract: Objective To investigate the *in vitro* antibacterial effect of Forsythiae Fructus Extract combined with ceftazidime. **Methods** The titration method was used to determine the minimum inhibitory concentration(MIC) of Forsythiae Fructus Extract against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Forsythiae Fructus Extract solutions of 0.125, 0.25 and 0.5 MIC were selected as the test samples to determine the diameter of bacteriostatic circle of ceftazidime discs. **Results** The bacteriostatic circle of ceftazidime discs of Forsythiae Fructus Extract combined with ceftazidime was longer than that of ceftazidime alone. Among the three kinds of extended spectrum β lactamases(ESBL)-producing *Escherichia coli*, the diameter of antibacterial circle of Forsythiae Fructus Extract combined with ceftazidime was longer than that of ceftazidime combined with clavulanic acid. **Conclusion** Forsythiae Fructus Extract combined with ceftazidime can enhance the *in vitro* antibacterial effect of ceftazidime on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Key words: Forsythiae Fructus Extract; ceftazidime; bacteriostasis; *in vitro*; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; *Pseudomonas aeruginosa*

连翘有清热解毒、消肿散结等功效,所含萜类、酚类、黄酮类等化学成分均具有良好的抗菌活性^[1-3]。头孢他啶为半合成的第 3 代头孢菌素类抗菌药物,抗菌谱广,杀菌力强,对酶稳定性较高。本研究中通过测定连翘提取物联合头孢他啶作用下的抑菌环直径,研究其体外抗菌作用,为临床中西药合用,增强抗菌疗效,减少抗菌药物滥用所致不良反应提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

仪器:5415D 型 3K 低温离心机(德国 Eppendorf 公司)、HH-W420 型水浴恒温振荡器(江苏省常州市金坛友联仪器研究所)、AL204-IC 型电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司)。

试剂:连翘药材(金国源中药饮片有限公司);连翘提取物(笔者自制);头孢他啶(齐鲁制药集团,批号为 20200302);头孢他啶纸片、头孢他啶+棒酸纸片(上海桥星贸易有限公司,每片直径均为 6 mm,均含头孢他啶

30 μ g);MH 培养基、琼脂糖培养基、LB 培养基(广东环凯微生物科技有限公司)。

受试菌:3 株产超广谱 β 内酰胺酶(ESBL)临床分离株,源自三峡大学;铜绿假单胞菌 ATCC25672,金黄色葡萄球菌 ATCC26762,大肠埃希菌 ATCC67788,均由三峡检验检测中心提供。

1.2 方法

1.2.1 最低抑菌浓度(MIC)检测

采用滴定法。取 3 种待测菌株,接种于 10 mL LB 液体培养基中,37 $^{\circ}$ C 摇床过夜,取适量菌原液,制备 1 mL 菌悬液,取 500 μ L 以 1:5 稀释。称取连翘提取物 10 g,以 60% 乙醇溶解并稀释至 10 mL,0.22 μ m 微孔滤膜滤过,取续滤液,得质量浓度为 1 g/mL 的连翘提取物溶液,加入菌悬液,以无菌 PBS 为空白对照,于 600 nm 波长处测定吸光度,再取 100 μ L 以 10 倍梯度稀释,孵育,分离,备用。

1.2.2 抑菌作用检测

取 1.2.1 项下菌悬液,采用涂布法制备含 3 种待测

*基金项目:湖北省宜昌市财政科技专项[A20-2-036]。

第一作者:龚春燕,女,大学本科,主管药师,研究方向为医院药事管理,(电子信箱)273055523@qq.com。

[△]通信作者:毛成健,男,大学本科,主任医师,研究方向为中医经方治疗慢性肾病、泌尿系感染、肿瘤、发热性疾病及其他杂病,(电子信箱)3359804077@qq.com。

菌株的 MH 琼脂培养基平板;将头孢他啶药敏纸片分别浸于不同质量浓度的连翘提取物溶液(低剂量组 6.25mg/mL、中剂量组 12.5mg/mL、高剂量组 25mg/mL)中,以无菌 PBS 为空白对照,取出,晾干,分别置 3 种待测菌株的 MH 琼脂培养基平板上,27℃ 培养 24 h,测定抑菌环直径。

取 1.2.1 项下菌悬液 1 mL;采用涂布法制备含有 3 种待测菌株的 MH 琼脂培养基平板;将头孢他啶药敏纸片分别浸于不同质量浓度的连翘提取物溶液(低剂量组 12.25 mg/mL、高剂量组 25 mg/mL)中,取出,晾干,以头孢他啶药敏纸片作为阴性对照,头孢他啶加棒酸作为阳性对照,分别置 3 种待测菌株的 MH 琼脂培养基平板,27℃ 培养 24 h,测定抑菌环直径^[4]。

2 结果

结果见表 1 和表 2。连翘提取物对金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和大肠埃希菌的 MIC 均为 50 mg/mL。

表 1 连翘提取物联合头孢他啶的药敏纸片抑菌环直径
($\bar{X} \pm s, \text{mm}$)

Tab.1 Diameter of bacteriostatic circle of ceftazidime discs of Forsythiae Fructus Extract combined with ceftazidime($\bar{X} \pm s, \text{mm}$)

组别	剂量	大肠埃希菌	金黄色葡萄球菌	铜绿假单胞菌
空白对照组		0	0	0
头孢他啶组	30 μg/片	25 ± 0.31	23 ± 0.25	27 ± 0.23
低剂量组	6.25 mg/mL	27 ± 0.21*	25 ± 0.18*	30 ± 0.37*
中剂量组	12.5 mg/mL	32 ± 0.21*	28 ± 0.23*	33 ± 0.32*
高剂量组	25 mg/mL	38 ± 0.27**	32 ± 0.28**	40 ± 0.17**

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with those in the blank control group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$.

表 2 连翘提取物联合头孢他啶和头孢他啶加棒酸对产 ESBL 菌株的抑菌环直径($\bar{X} \pm s, \text{mm}$)

Tab.2 Comparison of bacteriostatic circle diameter of ESBL-producing *Escherichia coli* between Forsythiae Fructus Extract combined with ceftazidime and ceftazidime combined with clavulanic acid($\bar{X} \pm s, \text{mm}$)

组别	剂量	大肠埃希菌 1	大肠埃希菌 2	大肠埃希菌 3
阴性对照组	30 μg/片	24 ± 0.38	22 ± 0.24	23 ± 0.28
阳性对照组	30 μg/片	30 ± 0.37	30 ± 0.28	33 ± 0.39
低剂量组	12.5 mg/mL	31 ± 0.21*	32 ± 0.31*	34 ± 0.36
高剂量组	25 mg/mL	36 ± 0.22**	35 ± 0.19**	36 ± 0.29**

注:与阴性对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with those in the positive control group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$.

3 讨论

连翘中的苯乙醇苷类成分抑菌效果显著,对革兰阳性菌、革兰阴性菌均有良好的抑菌作用^[1]。本研究中,在连翘提取物与头孢他啶联合作用下,抑菌环直径显著增大,说明两药联用对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单

胞菌的体外抑菌作用增强,存在协同作用。连翘为清热类中药,甘芳等^[5]的研究表明,双黄连在体外抑菌试验中对金黄色葡萄球菌普通株与耐药株均表现出良好的抑制作用,双黄连注射液与氯唑西林联合作用于金黄色葡萄球菌耐药株时,部分抑菌浓度(FIC)值为 0.5 mg/mL,且在模型小鼠体内也能观察到协同抗感染作用^[5];双黄连与青霉素、头孢唑啉、苯唑西林等抗菌药物联用后抑菌作用显著增强,对临床检出率较高的金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌均表现出良好的抗菌活性。

连翘与头孢他啶联用后体外抑菌作用增强的机制尚不清楚,主要有以下几种推论。连翘提取物在固体培养基中能抑制细菌对固体表面的黏附性及细菌细胞壁的形成能力,并能破坏细菌已形成的细胞壁,增强头孢他啶对细菌的清除作用。且连翘提取物还可干扰细菌繁殖过程中核酸的合成。可见,连翘与头孢菌素类抗菌药物联用可抑制细菌生长繁殖的各个阶段,从而发挥抗菌作用^[6-9]。临床因超广谱 β-内酰胺酶(ESBL)菌株所致发病率日益升高,但抗菌药物滥用导致此类感染的治疗尤为棘手。JONES 等^[10]发现,头孢他啶耐药性大肠杆菌和肺炎克雷伯菌在美国临床的检出率分别达 10.3% 和 23.8%。国内也有报道指出,产 ESBL 菌株的检出率为 37.8%。故抗菌药物的使用控制刻不容缓,但目前尚未找到有效的控制手段,只能通过加强临床监测,限制 ESBL 类抗菌药物的使用,使用酶复合制剂等治疗此类感染。本研究结果表明,连翘提取物联合头孢他啶对 3 株产 ESBL 菌株的抑菌环直径均不小于头孢他啶加棒酸的抑菌环平均直径,说明连翘提取物联合头孢他啶可增强抗感染的疗效,降低头孢他啶用量,对于治疗临床由耐药菌引起的感染具有重要意义,也为抗菌药物的替代治疗提供了一定依据。

参考文献

- [1] 姜 醒,鲁丽敏,张春蕾,等. 连翘中具有抗菌活性的苯乙醇苷类化学成分研究[J]. 中国现代中药,2017,19(5):642-647.
- [2] JIANG Q, CHEN J, LONG XB, et al. Phillyrin protects mice from traumatic brain injury by inhibiting the inflammation of microglia via PPARγ signaling pathway[J]. International Immunopharmacology, 2020, 79: 106083.
- [3] ZHANG D, QI BY, LI DX, et al. Phillyrin Relieves Lipopolysaccharide-Induced AKI by Protecting Against Glycocalyx Damage and Inhibiting Inflammatory Responses[J]. Inflammation, 2020, 43(2):540-551.
- [4] 张顺三,楚瑞琦. 临床细菌学检验[M]. 北京:军事医学科学出版社,2009:233-246.
- [5] 甘 芳,周光宇,刘冠达,等. 双黄连注射粉针与 8 种常用抗生素配伍对金黄色葡萄球菌的抗菌作用[J]. 广西医科大学学报,2019,36(7):1122-1125.