

FE 复合酶的蓄积毒性及对烧伤感染创面作用的观察

钟成城,陈炯(温州医学院附属第三医院,浙江 瑞安 325200)

摘要:目的 检测 FE 复合酶在动物体内的蓄积毒性及探讨不同浓度 FE 复合酶在烧伤感染创面上对微生物、愈合时间的作用及对肝、肾功能的可能影响。方法 昆明种小鼠经口毒性试验;将每 1 mL 含酶 1.5 3 活性单位的 FE 复合酶浸透二层纱布覆盖于烧伤感染创面上,每天换药一次,使用前、后 15 min 行创面细菌培养,每隔一周行肝、肾功能检查。结果 小鼠在染毒期间未见中毒症状出现;3 活性单位/1 mL 的 FE 复合酶对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)有效,1.5 活性单位/1 mL 的 FE 复合酶对其他创面分离菌均有效,愈合时间明显缩短,肝、肾功能正常。结论 FE 复合酶蓄积毒性分级属弱蓄积性,可以在烧伤创面上常规安全使用的药物,具有较强的广谱杀菌能力,但要有足够的浓度才有良好的效果。

关键词:FE 复合酶;蓄积毒性;烧伤;创面感染

中图分类号:R977.3;R644 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2004)01-0076-03

FE 复合酶是复配而成的一种生物酶,其主要作用是解决烧伤、外科等手术后期耐药性金黄色葡萄球菌感染久治不愈的难题。它的核心成分是溶葡萄球菌酶(Iysostaphin),是一种含锌的金属蛋白酶,专一降解细菌细胞壁肽聚糖成分中的甘氨酸肽键,可以迅速杀死金黄色葡萄球菌等细胞壁具有甘氨酸肽键结构的细菌。FE 复合酶作为一种新型的防治创面感染消毒剂逐渐被应用于烧伤感染创面,由于烧伤创面的大面积使用及使用时间较长,故其蓄积毒性特别被临床关注。烧伤创面的感染是烧伤感染的病原菌主要侵入途径^[1],尤其创面耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)感染后,目前尚缺乏有效方法清除,因此我院为控制烧伤患者的感染,于 2002 年 1 月至今将不同浓度的 FE 复合酶(上海高科生物工程有限公司生产的百克瑞)用于烧伤感染创面,探讨 FE 复合酶在感染的烧伤创面使用浓度,并采用剂量递增蓄积系数法进行动物蓄积毒性试验,以观察其安全性,现报告如下。

1 实验观察

1.1 材料与方法

准确称取高科复合溶菌酶消毒剂 2.50,3.75,5.50,8.50,12.5g,分别加蒸馏水至 50 mL 充分混匀后作为不同染毒期的受试物。动物采用昆明种小鼠,清洁级,20 只雌雄各半,体重 19~22g,由上海医科大学实验动物部提供,合格证号:02-22-1;饲养温度(20±2)℃,相对湿度 40%~70%,动物室合格证号:02-28;小鼠饲料由苏杭实验动物科技发展公司提供,合格证号:9905084。将动物分为雌雄两组,每组 10 只,经口灌胃容量以 0.1 mL/10g 体重,每天一次,每 4 天一期,首期剂量用 0.1 LD₅₀即 0.5/kg。连续 4d,以后每期剂量依次递增 50%,在递增同时重称体重,按体重校正灌胃量。

1.2 结果

小鼠连续经口染毒 20d,在染毒期间未见中毒症状出现,死亡动物为 0,累计剂量为 26.2/kg,蓄积系数 K>5(受试物染毒剂量、累计剂量和动物死亡数见表 1),根据蓄积毒性分级,属弱蓄积性。

表 1 受试物染毒剂量、累计剂量和动物死亡数

Tab 1 The poisoning and accumulative dosage of experimen-

tal drug and the number of died animal

染毒天数 (日)	每日染毒剂量		累计总剂量		动物死亡数(只)	
	LD ₅₀ ×	g/kg	LD ₅₀ ×	g/kg	♀	♂
1~4	0.10	0.50	0.40	2.00	0	0
5~8	0.15	0.75	1.00	5.00	0	0
9~12	0.22	1.10	1.88	9.40	0	0
13~16	0.34	1.70	3.24	16.20	0	0
17~20	0.50	2.50	5.24	26.20	0	0
21~	0.75					

2 临床观察

2.1 一般资料

FE 复合酶治疗组 32 例 63 处,男性 21 例,女性 11 例;最大年龄 76 岁,最小的年龄 2 岁,平均年龄(35±19)岁。烧伤面积最大 97%,最小 7%,平均面积(35±18)%;细菌培养观察 26 例 32 处,用 FE 复合酶前创面细菌培养:MRSA 8 处,铜绿假单胞菌 12 处,阴沟肠杆菌 6 处,河生肠杆菌 2 处,鲍氏不动杆菌 3 处,白色念珠菌 1 处。对照组采用 2001 年创面使用 1%SD-Ag 霜剂(院内制剂室自行配制)的烧伤患者 31 例 53 处,男性 20 例,女性 11 例;最大年龄 72 岁,最小的年龄 5 岁,平均年龄(32±22)岁。烧伤面积最大 85%,最小 10%,平均面积(30±25)%,表 2。

表 2 两组病例选择

Tab 2 Slection of the cases

组别	n	性别		年龄	烧伤面积(%)
		男	女		
FE 复合酶治疗组	32	21	11	35±19	35±18
SD-Ag 对照组	31	20	11	32±22	30±25

2.2 使用及检查方法

2.2.1 在本治疗组 32 例 69 处的创面,分别为深Ⅱ度、Ⅲ度溶痂创面及肉芽创面上使用;FE 复合酶使用的浓度分二种,分别为每 1 mL 含酶 1.5 活性单位及每 1 mL 含酶 3 活性单位;方法为将 FE 复合酶浸透二层纱布覆盖于创面,湿敷包扎,每天换药一次,每次使用前湿敷 15 min 后均取创面分泌物送细菌培养;一般情况下应用 5~7d,最长分别在不同的残余创面连续使用时间为一个月;对照组 31 例 53 处的浅、深Ⅱ度创面上分别使用 1%SD-Ag 霜剂包扎,每日换药一次。

2.2.2 每例使用前及每隔 1 周后均作一次肝、肾功能检

查,直至使用结束。

2.3 观察指标

以国际惯用的三度四分法标准区分创面;对照组选用同一深度、部位相应、面积相近的创面。

2.4 统计方法

愈合时间(d)用 $\bar{x} \pm s$ 表示,均值比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 微生物学检查

3.1.1 MRSA:共计 6 例 10 处,其中 3 例 5 处部位感染创面使用每 1 mL 含酶 1.5 活性单位 FE 复合酶连续 5 次无效后改用每 1 mL 含酶 3 活性单位 FE 复合酶,另外 3 例 5 处 MRSA 感染直接使用每 1 mL 含酶 3 活性单位的 FE 复合酶原液,结果 2 处使用 1 次后转阴,5 处连续使用 2 次后转阴,3 处连续使用 3 次后转阴。

3.1.2 铜绿假单胞菌:共计 11 例 13 处,均使用每 1 mL 含酶 1.5 活性单位 FE 复合酶。其中 3 处使用 1 次转阴,2 处连续使用 2 次转阴,2 处连续使用 3 次转阴,3 处连续使用 4 次转阴,3 处部位连续使用 5 次转阴。

3.1.3 阴沟肠杆菌:本组 FE 复合酶使用浓度为每 1 mL 含酶 1.5 活性单位;共计 6 例 8 处,其中 5 处使用 1 次转阴,3 处连续使用 2 次转阴。

3.1.4 河生肠杆菌:本组 FE 复合酶使用浓度为每 1 mL 含酶 1.5 活性单位;共计 2 例 3 处,使用 1 次后均转阴。

3.1.5 鲍氏不动杆菌:本组 FE 复合酶使用浓度为每 1 mL 含酶 1.5 活性单位;共计 3 例 3 处,其中 2 处使用 1 次转阴,1 处连续使用 2 次转阴。

3.1.6 白色念珠菌:本组 FE 复合酶使用浓度为每 1 mL 含酶 1.5 活性单位;共计 1 例 1 处,使用连续 2 次后转阴。

以上共计有 32 例 69 处 6 个菌株的烧伤细菌感染创面上,进行了不同浓度 FE 复合酶的使用,并对其进行的 155 次使用前后微生物学的检验对比观察,其中 3 例 5 处 MRSA 感染使用每 1 mL 含酶 1.5 活性单位 FE 复合酶 5 次无效后,改用每 1 mL 含酶 3 活性单位的 FE 复合酶原液,另外 3 例 5 处 MRSA 感染直接使用每 1 mL 含酶 3 活性单位的 FE 复合酶原液,结果全部有效,换药 1~3 次 MRSA 转阴。铜绿假单胞菌、阴沟肠杆菌、河生肠杆菌、鲍氏不动杆菌和白色念珠菌含 FE 复合酶 1.5 单位/mL 换药 1~2 次即全部转阴。

3.2 愈合时间的比较

治疗组愈合时间较对照组愈合时间明显缩短, $P < 0.05 \sim 0.01$,见表 3。

表 3 使用复合酶后治疗 II 度烧伤创面的愈合时间比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effect of FE multienzyme compound on healing time of second-degree burn wound

	创面深度 (n)		愈合时间(d)	
	浅 II 度	深 II 度	浅 II 度	深 II 度
治疗组	28	35	11.03 $\pm$ 1.85 ¹⁾	18.15 $\pm$ 2.87 ²⁾
对照组	23	30	13.21 $\pm$ 3.52	24.08 $\pm$ 3.18

注:与对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$

3.3 肝肾功能的监测

26 例在使用了 2 种浓度的 FE 复合酶前、中、后的肝、肾功能共计监测 62 次,结果均未见异常。

典型病例:患者男性,20 岁,因在家中熟睡被意外失火烧伤全身多处,并从约 10 米高处跳下伴有短时间昏迷,于伤后 1h 未经任何治疗急诊入院,诊断:①97%火焰烧伤,浅 II°2%,深 II°20%,III°75%。②重度吸入性损伤伴有 MODS(脑、肺、肝、肾)。在浅 II°烧伤的头皮、会阴创面,在深 II°烧伤的颜面、颈、臀、双小腿前侧及双足创面使用了 FE 复合酶。结果:头皮、会阴创面使用每 1 mL 含酶 1.5 活性单位的 FE 复合酶后换药,10d 愈合;颜面、颈部创面使用了每 1 mL 含酶 1.5 活性单位 FE 复合酶后,18d 愈合;入院时臀部培养发现阴沟肠杆菌,使用了每 1 mL 含酶 1.5 活性单位 FE 复合酶 2 次后转阴,20d 愈合;右小腿前侧创面入院时培养发现 MRSA,使用了每 1 mL 含酶 1.5 活性单位 FE 复合酶 5d,仍呈阳性,改用每 1 mL 含酶 3 活性单位的 FE 复合酶原液 2 次后转阴,22d 愈合。其余 III°创面经切削植皮后愈合,伤后 75d 基本治愈,92d 出院。

4 讨论

FE 复合酶中含有溶葡萄球菌酶和其它溶菌酶及抑菌肽。它能切断致病菌细胞壁肽聚糖成份中甘氨酸肽键(Gly-Gly 键)和裂解 N-乙酰胞壁酸 G-1 与乙酰葡萄糖胺 G-4 之间的 β -1,4 糖苷键,多重破壁杀菌机制使 FE 复合酶能迅速杀死致病菌,包括杀灭多种对抗生素耐药的耐药菌,并使细菌极难对它产生耐药性;邹京宁等^[2,3]指出 FE 复合酶控制烧伤感染有较好的治疗效果;Climo 等^[4,5]也曾介绍了溶葡萄球菌酶对 MRSA 感染的主动脉内膜炎有很好的杀菌治疗效果。本实验资料显示,FE 复合酶对 MRSA 和铜绿假单胞菌的清除比其他菌难,但只要足够的浓度使用 1~5 次后,所有感染的创面微生物均能被清除,能快速、有效地控制烧伤创面的革兰阳性菌、革兰阴性菌及真菌感染,表明其具有较强的杀菌能力,与李罗珠等^[6]对烧伤创面感染 MRSA 治疗效果接近。

对 MRSA 感染,使用每 1 mL 含酶 1.5 活性单位的 FE 复合酶 5 次连续无效,改用 FE 复合酶原液(每 1 mL 含酶 3 活性单位)后见效。与其使用说明书资料上的使用浓度及效果有所不同(在感染创面湿敷 FE 复合酶 0.6 单位/mL,重度感染创面湿敷 FE 复合酶 3 单位/mL 数分钟后对金黄色葡萄球菌、白色念珠菌及溶血性链球菌等杀菌率达 99.9%),这可能与临床实验时菌株不同有关。所以我们认为应根据临床效果和细菌学检测调整和确定浓度,以达到良好的杀灭致病菌效果。

根据对小鼠蓄积毒性试验结果显示其蓄积系数(K 值) > 5 ,毒性分级属弱蓄积性。我们在 26 例患者中使用的面积为 7%~97%,最大的一次使用量为 FE 复合酶浓缩液 600 mL(每 1 mL 含酶 3 活性单位),创面为烧伤深 II 度、III 度及溶痂后肉芽创面,最长时间分别在不同部位的残余创面连续使用达一个月。结果肝、肾功能检查均未显示异常,也未发现其它异常反应。烧伤创面传统的用药为 SD Ag

(磺胺嘧啶银),但SD-Ag使用年限已近30年,耐药菌株明显增多,且银离子的吸收和排泄随用药面积增加而增加,且在体内有蓄积作用^[7],Boosalis等^[8](1987)、Coombs等^[9](1992)分别用原子吸收光谱法测定了20多名烧伤患者创面用磺胺嘧啶银后血、尿和组织银的浓度,结果发现血、尿银升高几十倍到几百倍,在一例使用创面磺胺嘧啶银,烧伤面积60%的患者尿中,测的银离子浓度高出正常人1100倍,死亡患者的肝肾组织和角膜中有银的沉积,从银代谢角度提示了应用银的安全性问题,并认为磺胺嘧啶银只能用于中小面积的烧伤患者;国内朱学骏提出磺胺嘧啶银1d用量不能超过30g^[10]。另外,磺胺嘧啶银在创面使用后,磺胺嘧啶的血药浓度可达10~20 mg/L,当创面用药量大时,吸收量增加,血药浓度可更高,新生儿因吸收后也有发生新生儿核黄疸可能^[11],因此对磺胺过敏、肝肾功能损害者及新生儿不宜使用^[12]。我们认为FE复合酶是一种比较安全的烧伤创面用药,可以推广在大面积烧伤的创面上使用^[13]。

本组资料显示,FE复合酶无论从烧伤创面抗感染或深、浅Ⅱ度烧伤创面愈合时间,使用的适应范围,均优于SD-Ag,可降低感染风险,缩短住院时间,提高创面安全系数,尽可能减少深Ⅱ度创面因感染加深导致手术,对惧怕手术或供皮区缺乏的烧伤患者有着重要意义。

参考文献

- [1] 黎鳌.烧伤感染[A].见:黎鳌主编.烧伤治疗学[M].第2版.北京:人民卫生出版社,1997,228-229.
- [2] 邹京宁,胡云凤,葛绳德,等.外用溶葡萄球菌酶治疗小鼠烧伤创面金黄色葡萄球菌感染[J].中华外科杂志,1992,30:

- [3] 邹京宁,黄青山,陆婉英,等.外用FE复合酶消毒剂控制烧伤创面感染的临床观察[J].中华医院感染学杂志,1999,9:167.
- [4] Climo MW, Patron RT, Goldstein BP, *et al.* Lysostaphin treatment of experimental methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* aortic valve endocarditis[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998, 42:1335.
- [5] Patron RT, Climo MW, Goldstein BP, *et al.* Lysostaphin treatment of experimental aortic valve endocarditis caused by a *Staphylococcus aureus* isolate with reduced susceptibility to vancomycin[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43 (7):1754.
- [6] 李罗珠,于益鹏,陈玉林,等.复合溶菌酶在烧伤创面感染中的应用[J].中华烧伤杂志,2002,18:225.
- [7] 许伟石.烧伤创面处理[J].见黎鳌,黎鳌烧伤学[M].上海:上海科学技术出版社出版,2001:102-129.
- [8] Boosalis MG, McCall JT, Ahrenholz DH, *et al.* Serum and urinary silver levels in thermal injury patients[J]. *Surgery*, 1987,101(1):40.
- [9] Coombs CJ, Wan AT, Masterton JP, *et al.* Do burn patients have a silver lining[J]. *Burns*, 1992,18(3):179.
- [10] 朱学骏.皮肤科用药[A].见杨藜藻,药理学和药物治疗学[M].北京:人民卫生出版社,2000,2203-2225.
- [11] 诸骏仁,中华人民共和国药典临床用药须知(二部)[M].北京:化学工业出版社,2000:603-757.
- [12] 陈炯,韩春茂.烧伤创面大面积使用纳米银敷料一例[J].中华烧伤杂志,2003,19(5):235.
- [13] 陈炯,韩春茂,叶臻,等.FE复合酶防治烧伤创面感染的作用[J].中华医院感染学杂志,2003,13(4):342.