

中医中药

【文章编号】1006-6233(2020)07-1217-04

复方红根草片及其组方对多重耐药菌的抗菌活性及逆转耐药性的研究

胡俊辉¹, 王莹¹, 赵静怡², 李建会², 肖旭¹, 姜艳平¹, 姚银辉¹, 宋红¹

(1.承德医学院附属医院药学部, 河北承德 067000

2.承德医学院, 河北承德 067000)

【摘要】目的:复方红根草片及其组方中5种中药材对多重耐药菌的体外抗菌活性及逆转耐药性研究,为中药抗菌治疗提供依据。**方法:**收集住院病人痰液分离的耐药菌鲍曼不动杆菌和肺炎克雷伯菌,采用微量肉汤稀释法确定受试菌的MIC值,计算联合用药指数 Σ FIC以判断逆转耐药性与否。**结果:**体外抗菌活性试验示复方红根草片对多重耐药鲍曼不动杆菌无抑菌效果,对多重耐药肺炎克雷伯菌有抑菌效果。逆转耐药性试验示复方红根草片与亚胺培南、头孢哌酮舒巴坦及庆大霉素分别联合用药时,有协同作用,其组方中药材分别与亚胺培南、头孢哌酮舒巴坦、庆大霉素、头孢吡肟联用时,对多重耐药肺炎克雷伯菌有不同的协同作用。**结论:**复方红根草片及其组方5为中药材对多重耐药肺炎克雷伯菌的抗菌活性及逆转耐药性均有一定效果。

【关键词】 复方红根草片; 体外抗菌; 多重耐药菌

【文献标识码】 A **【doi】**10.3969/j.issn.1006-6233.2020.07.038

Study on the Antibacterial Activity and Reverse Drug Resistance of Compound Honggen Grass Tablet and Its Components against Multidrug Resistant Bacteria

HU Junhui, WANG Ying, et al

(The Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Hebei Chengde 067000, China)

【Abstract】Objective: To provide the basis for the antibacterial treatment of traditional Chinese medicine, the in vitro antibacterial activity and reverse drug resistance of 5 kinds of Chinese herbal medicines in compound honggencao tablet and its formulation were studied. **Methods:** The mic value of the drug-resistant bacteria, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae*, isolated from the sputum of the inpatients, was determined by the method of broth dilution, and the index of combined use Σ FIC was calculated to judge whether the drug resistance was reversed or not. **Results:** In vitro antibacterial activity test showed that compound Honggen tablet had no antibacterial effect on *Acinetobacter baumannii* and had antibacterial effect on *Klebsiella pneumoniae*. The reverse drug resistance test showed that the compound honggencao tablet had synergistic effect with imipenem, cefoperazone sulbactam and gentamycin respectively. The Chinese herbal medicines with imipenem, cefoperazone sulbactam, gentamycin and cefepime respectively had different synergistic effect on *Klebsiella pneumoniae*. **Conclusion:** Compound honggencao tablet and its compound 5 are Chinese herbal medicines, which have certain effect on antibacterial activity and reverse drug resistance of multi drug resistant *Klebsiella pneumoniae*.

【Key words】 Compound honggencao tablets; Antibiotic effect in vitro; Multi-drug resistant bacteria

随着抗菌药物长期广泛、过度、不合理的应用,导致耐药菌频繁出现,并呈逐年上升趋势,致使感染患者病情加重、死亡率提高,给临床治疗带来极大困难^[1]。近年来,越来越多的研究显示,中药及其复方制剂具有一定的抗菌作用,甚至体外研究显示中药及其复方制剂有逆转细菌耐药的作用^[2,3]。CHINET 细菌监测结果显示,肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*, KP)菌株分离率呈逐年上升趋势,对美罗培南和亚胺培南的耐药率上升幅度高达8倍,;鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, AB)对美罗培南和亚胺培南的耐药率分别为69.3%和66.7%^[1]。复方红根草片是由金银花、穿心莲、红根草、鱼腥草、野菊花5味中药组成的复方制剂,临床常用于治疗急性咽喉炎、扁桃体炎、肠炎等。本研究分析复方红根草片及其组方5种中药对耐药肺炎克雷伯菌和鲍曼不动杆菌的抗菌活性及逆转耐药性,为抗菌治疗提供研究依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验菌株:碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌(*Carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae*, CRKP)源于2017年承德医学院附属医院痰液分离菌株118株中的10株,耐药鲍曼不动杆菌(*Multi-drug resistant Acinetobacter baumannii*, MDR-AB)源于2016年11月承德医学院附属医院住院患者痰液分离菌株中的10株,剔除同一患者同一来源的重复菌株。所有菌株均源于承德医学院附属医院检验科,VITEK 2-Compact GN卡鉴定。

1.1.2 仪器与试剂:VITEK 2-Compact GN-AST09药敏卡(法国生物梅里埃公司产品);水解酪蛋白琼脂(MH)购自温州康泰公司;药敏纸片OXOID产品:哌拉西林-他唑巴坦、阿米卡星、庆大霉素、环丙沙星、左氧氟沙星、头孢他啶、亚胺培南和美罗培南。

1.1.3 实验用药:复方红根草片(桂林三金药业),规格0.31g/片,每片相当于干膏0.12g;金银花、穿心莲、红根草、鱼腥草、野菊花购自中国药材。

1.2 方法

1.2.1 药液制备:将复方红根草片溶于蒸馏水后进行浓缩,使用浓度达到1g/mL,过滤除菌密封后置4℃保

存。将5种草药分别取50g,分别加入5倍量蒸馏水100℃加热3h,冷却,过滤,滤渣再加250mL蒸馏水100℃加热2h,分别合并药液浓缩至50mL,相对浓度为1g/mL,过滤,取上清液,高压灭菌,于4℃保存。

1.2.2 菌液制备:将菌株接种于MH培养基中,于37℃培养24h,稀释至浓度 10×10^6 CFU/mL,4℃冷藏备用。

1.2.3 抑菌活性的测定:根据2017美国临床和实验室标准协会(clinical and laboratory standards institute, CLSI)推荐,采用微量肉汤稀释法分别测定复方红根草片及其组方中5味草药的抗菌药的最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)。每组取10支试管编号,分别加入1mL肉汤,1号试管中加入1mL药液,混匀后取1mL加入2号试管,混匀后取2号试管液体1mL加入3号试管,以此类推,至9号试管取1mL液体弃去,10号试管为对照组,不加药液。于37℃培养24h,根据浊度变化,判读MIC值。每组重复3次,取平均值。

1.3 逆转细菌耐药性试验:分别测定抗菌药物单药的MIC,方法同复方红根草片,抗菌药物为亚胺培南、头孢哌酮舒巴坦、庆大霉素、头孢吡肟。后测定两药联合用药的MIC值,组合方式为复方红根草片及其组方5味中药分别与上述四种抗菌药物联用。方法同单药MIC测定。联合用药的抗菌活性用联合用药指数 Σ FIC表示,该数值计算方法如下: Σ FIC = FIC-A + FIC-B,其中FIC-A表示B药存在时A药的MIC值与A药单药的MIC值之比,FIC-B表示A药存在时B药的MIC值与B药单药的MIC值之比。结果判断标准为: Σ FIC \leq 0.5表示两药有协同作用, Σ FIC $>$ 4时表示两药有拮抗作用, $0.5 < \Sigma$ FIC \leq 4表示两药无相关作用。

2 结果

2.1 抑菌作用结果:对CRKP抑菌试验中,复方红根草片的MIC为256 μ g/mL,组方中野菊花无抑菌作用,金银花、穿心莲、红根草、鱼腥草的MIC分别为500 μ g/mL、125 μ g/mL、125 μ g/mL、62.56 μ g/mL。对MDR-AB试验中,复方红根草片、穿心莲、红根草均无抑菌作用,鱼腥草、野菊花、金银花的MIC分别为62.5 μ g/mL、1000 μ g/mL、1000 μ g/mL,见表1。

欢 迎 投 稿 欢 迎 指 正

表 1 复方红根草片及其组方对 CRKP 和 MDR-AB 的 MIC 值

MIC(μg/mL)	复方红根草片	金银花	穿心莲	红根草	鱼腥草	野菊花
CRKP	256	500	125	125	62.5	-
MDR-AB	-	1000	-	-	62.5	>1000

2.2 逆转细菌耐药性试验结果:上述实验结果所示,复方红根草片对 MDR-AB 没有抑菌作用,因此逆转细菌耐药性试验只研究了 CRKP 菌。单药对 CRKP 的结果如表 2 所示,CRKP 对亚胺培南耐药。联合用药抗菌活性试验如表 3 所示,红根草与亚胺培南、头孢哌酮舒巴坦、庆大霉素有协同作用,金银花与头孢哌酮有协

同作用,穿心莲与亚胺培南、庆大霉素有协同作用,红根草与亚胺培南、头孢哌酮、庆大霉素有协同作用,鱼腥草与亚胺培南、头孢哌酮舒巴坦、头孢吡肟有协同作用,野菊花对 CRKP 无明显作用,其他联合用药组均无相互作用。

表 2 抗菌药物单药和两药联合对 CRKP 的 MIC 值

抗菌药物	亚胺培南	头孢哌酮舒巴坦	头孢吡肟	庆大霉素
MIC(μg/mL)	-	500	≥1000	256

表 3 联合用药的 ΣFIC 值

抗菌药物 ΣFIC	复方红根草片	金银花	穿心莲	红根草	鱼腥草	野菊花
亚胺培南	0.196	1.625	0.396	0.248	0.176	-
头孢哌酮舒巴坦	0.304	0.306	0.873	0.391	0.371	-
头孢吡肟	0.896	1	0.562	1.456	0.298	-
庆大霉素	0.244	1.427	0.327	0.196	0.97	2.76

3 讨论

鲍曼不动杆菌和肺炎克雷伯菌是医院感染的重要致病菌,其检出率与耐药率呈逐年上升趋势,针对两种耐药菌的临床治疗药物的选择性很小,如何选择耐药菌的有效治疗已成为世界难题^[4]。大量研究显示中药材及其复方制剂在具有良好的抗菌作用,甚至对多重耐药菌已有较好的抗菌活性,甚至可以逆转细菌耐药性^[5,6]。中药通过直接抑制细菌和提高人体免疫力间接抗菌,目前研究较多集中在中药材及其复方制剂的抗菌作用研究,包括活性成分、作用靶点等,本课题组在一项研究中使用网络药理学方法分析了红根草化学成分分子机制,其关键作用蛋白基因 PLG、MASP1、MASP2 等涉及的主要信号通路和金色葡萄球菌感染有关。

随着本院碳青霉烯类抗菌药物的使用,导致了细菌耐药比例逐年上升,给临床治疗带来困难。本试验研究了复方红根草片及其组方 5 味中药材对我院提取

的 MDR-AB 和 CRKP 的抗菌作用及耐药性逆转试验,结果显示,复方红根草片及 5 味中药材对 MDR-AB 抗菌作用不明显;对 CRKP 抗菌作用,除野菊花外均有一定的抗菌活性;在对 CRKP 耐药性逆转试验显示,复方红根草片及 5 味中药与选用 4 种抗菌药物有一定的协同作用。中药及其复方制剂逆转细菌耐药性效果明确,但中药逆转耐药性的机制比较复杂,主要有消除 R 质粒、抑制 β 内酰胺酶、影响外排转运因子的表达、对抗菌药物具有增敏效果^[7]等。章如玲^[8]等研究了肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶基因分布与耐药性的关系,以 KPC-2 为主,主要克隆系为 ST11、ST15、ST764。

本研究结果显示复方红根草片及其组方 5 味中药材对 CRKP 具有耐药性逆转效果,给临床用药研究提供一些依据。目前,对于中药材及其复方制剂的抗菌活性及耐药性研究主要为体外试验,而且主要针对单独菌株,因此,具有一定局限性,如中药材产地不同、亚种不同、试验菌多来源多元化等。在实际临床应用中,

中药材及其制剂作用于机体或靶器官的过程较为复杂,因此,抗菌及逆转耐药作用与各个化学成分的作用靶点关系还需要深入研究,为中药材及其制剂的开发利用提供依据。

【参考文献】

- [1] 胡付品,朱德妹,汪复,等.2017年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2018,18(3):241~251.
- [2] 房华,汪瑞忠,张晓雪,等.6种中草药对多重耐药菌的抗菌活性及逆转耐药性作用的体外研究[J].国际检验医学杂志,2018,39(4):396~399.
- [3] 房华,汪瑞忠,张晓雪,等.中西药联合对多重耐药铜绿假单胞菌体外抗菌作用研究[J].中国现代医生,2017,55(31):107~110.
- [4] Tascini C, Tagliaferri E, Giani T, et al.Synergistic activi-

ty of colistin plus rifampin against colistin-resistant KPC-producing *klebsiella pneumoniae* [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2013, 57(8):3990~3993.

- [5] 彭坤,杨毅.中药抗耐药性细菌研究文献回顾性分析[J].中医研究,2018,31(12):59~63.
- [6] 潘杰,苗霞,刘启波,等.12种中药配方颗粒体外逆转临床常见细菌耐药性分析[J].检验医学,2016,31(6):503~508.
- [7] 钟海琴,蔡挺,张顺.中药抗肺炎克雷伯菌及逆转耐药性的研究进展[J].中华中医药杂志,2012,27(6):1624~1627.
- [8] 章如玲,卢玲玲,涂斐佩,等.肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶基因分布与耐药相关性研究[J].中国卫生检验杂志,2016,26(3):442~446.

【文章编号】1006-6233(2020)07-1220-06

通络软坚胶囊联合恩替卡韦分散片治疗乙肝后肝纤维化的临床疗效及对相关指标的影响

沈丽贤, 王晓玲, 李惠文

(河北中医肝病医院肝病治疗中心二病区, 河北 石家庄 050800)

【摘要】目的:探讨恩替卡韦与通络软坚胶囊治疗乙肝后肝纤维化患者临床疗效,并观察其对患者血清学指标和肝功能及肝纤维化的影响。**方法:**收集2015年1月至2017年1月收治的120例乙肝后肝纤维化患者作为研究对象,采用简单随机数表法分为对照组和观察组各60例,两组患者均给予基础治疗,包括维生素类药物、甘草酸二铵肠溶胶囊等,在此基础上,对照组患者加用恩替卡韦片口服;观察组患者在对照组治疗基础上加用通络软坚胶囊。两组均6个月1疗程,治疗2个疗程。观测和评价两组患者治疗前、后血清血清基质金属蛋白酶-13(MMP-13)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、国际标准化比值(INR)、终末期肝病模型评分(MELD)变化。对比治疗前、后两组患者肝功能指标、肝纤维化指标的变化,观察记录两组临床疗效及不良反应发生情况,对其安全性进行评价。**结果:**治疗2个疗程后,观察组患者临床治疗总有效率为95.00%(57/60),明显高于对照组的81.67%(49/60),差异有统计学意义($P < 0.01$)。两组血清学各项炎症指标(MMP-13、TNF- α 、TGF- β 1)、肝功能指标(ALT、GGT、TB)、INR及MELD评分较治疗前明显下降,且观察组各项指标改善程度较对照组更显著,差异有统计意义($P < 0.01$)。观察组患者的肝纤维化指标下降程度明显优于对照组($P < 0.01$)。治疗期间两组患者均未见严重性不良反应发生。**结论:**恩替卡韦片联合通络软坚胶囊治疗乙肝后肝纤维化患者具有明显疗效,可显著改善患者肝功能及肝纤维化指标,且较安全。

【关键词】 乙肝后肝纤维化; 恩替卡韦; 通络软坚胶囊; 肝功能

【文献标识码】 A 【doi】10.3969/j.issn.1006-6233.2020.07.039

A Study of the Curative Effect of Entecavir and Tongluo Ruanjian Capsule for Patients with Posthepatitic Cirrhosis and Their Effect on Liver Function and Liver Fibrosis

SHEN Lixian, WANG Xiaoling, LI Huiwen

(Hebei Hepatopathy Hospital of Traditional Chinese Medicine,

【基金项目】河北省中医药管理局科学技术研究计划课题,(编号:2018201)