

痰热清联合哌拉西林/他唑巴坦对产超广谱 β -内酰胺酶肺炎克雷伯菌的体外抑制作用

李亚娜¹, 陶庆春^{2△}, 苏建荣¹ (1. 首都医科大学附属北京友谊医院检验科, 北京 100050; 2. 北京中医药大学第三附属医院检验科, 北京 100029)

【摘要】 目的 观察痰热清注射液及其与哌拉西林/他唑巴坦注射液(又称特治星)联合应用对体外产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)肺炎克雷伯菌的抑菌效果,为耐药菌株的防治提供新方式。**方法** 按照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)推荐的肉汤稀释法,对产 ESBLs 肺炎克雷伯菌进行体外抑菌试验,分析痰热清注射液单用及与特治星联合应用(间隔 6 h)的抑菌效果。**结果** 痰热清注射液对产 ESBLs 肺炎克雷伯菌的最小抑菌浓度(MIC)为 750 $\mu\text{L/mL}$;特治星对产 ESBLs 肺炎克雷伯菌的 MIC 为 28.125 $\mu\text{g/mL}$;加入痰热清作用 6 h 后再加入特治星,当痰热清最终浓度大于 450 $\mu\text{L/mL}$ 时,特治星的用量比单用时至少减少 5 倍。**结论** 痰热清与特治星间隔 6 h 联合应用具有明显的抑菌效果,能大幅度地减少抗菌药物的用量,这对临床治疗的改善和减少耐药菌株的产生都具有积极意义。

【关键词】 肺炎克雷伯菌; 超广谱 β -内酰胺酶; 痰热清注射液; 抑菌试验
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.05.020 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)05-0631-02

Bacteriostasis effect in role of Tanreqing combined Tazocin against ESBLs-producing *K. pneumoniae* LI Ya-na¹, TAO Qing-chun^{2△}, SU Jian-rong¹ (1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

【Abstract】 Objective To observe the bacteriostatic effect in vitro of Chinese medicine Tanreqing Injection combined with Piperacillin/Tazobactam(Tazocin) against ESBLs-producing *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), and to provide a new way for the prevention and treatment of drug-resistant strains. **Methods** According to the broth dilution method recommended by the American Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), the in vitro bacteriostatic test was performed on ESBLs-producing *K. pneumoniae* for analyzing the bacteriostasis effect of Tanreqing Injection and the combination use of Tanreqing Injection and Tazocin (interval of 6 h). **Results** The minimal inhibitory concentration(MIC) of Tanreqing Injection and Tazocin against ESBLs-producing *K. pneumoniae* were 750 $\mu\text{L/mL}$ and 28.125 $\mu\text{g/mL}$ respectively. In the combination use of Tanreqing Injection and Tazocin (interval of 6 h), when the final concentration of Tanreqing was more than 450 $\mu\text{L/mL}$, the dose of Tazocin was decreased by at least 5 times than its single use dose. **Conclusion** The combination use of Tanreqing Injection and Tazocin (interval of 6 h) has significant bacteriostatic effect and reduce the dose of antibacterial drugs by a large margin, which could possess an active significance in improving the clinical treatment and reducing the emergence of drug-resistant strains.

【Key words】 *Klebsiella pneumoniae*; extended spectrum β -lactamases; Tanreqing Injection; bacteriostatic test

近年来,多重耐药或者泛耐药细菌不断出现,如产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌,耐万古霉素肠球菌(VRE),多重耐药铜绿假单胞菌及全耐药鲍曼不动杆菌等,给临床治疗及感染控制带来了很大的困难。随着中医研究的不断深入和中西医治疗的不断发展,中药治疗的优势不断凸显。中药痰热清具有清热解毒,提高机体免疫功能等多种功效,在治疗呼吸道感染等方面具有良好的效果^[1-3]。本研究采用中药痰热清联合哌拉西林/他唑巴坦注射液(又称特治星),按照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)^[4]推荐的肉汤稀释法,对产 ESBLs 肺炎克雷伯菌进行体外抑菌试验,观察其对产 ESBLs 肺炎克雷伯菌的抑菌效果。现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 产 ESBLs 肺炎克雷伯菌来自临床分离菌株,标本于 2011 年 3 月 11 日取自北京中医药大学附属东直门医院

送检的痰标本;质控菌为肺炎克雷伯菌 ATCC 700603,由上海复祥生物科技有限公司提供。

1.2 仪器与试剂 痰热清注射液(上海凯宝药业股份有限公司),特治星(石药集团中诺药业有限公司);VITEK 32 全自动微生物分析系统(法国生物梅里埃公司),生物安全柜(北京五洲东方科技发展有限公司),电热恒温培养箱(北京科伟医疗器械厂)。

1.3 方法

1.3.1 产 ESBLs 肺炎克雷伯菌的分离与鉴定 痰标本严格按照《全国临床检验操作规程》第 3 版标准进行分离培养。采用 VITEK 32 全自动微生物分析系统进行鉴定及表型筛选,并按照 CLSI 推荐的纸片扩散法进行确认。

1.3.2 试验分组 试验分为 5 组,第 1 组:痰热清浓度对倍稀释组;第 2 组:痰热清浓度递减组;第 3 组:特治星组;第 4 组:

痰热清+特治星组(间隔 6 h);第 5 组:痰热清+特治星组(间隔 6 h)。

1.3.3 抑菌试验 第 1 组采用对倍稀释法,35 ℃培养 24 h 后,确定痰热清的最小抑菌浓度(MIC)值;第 2 组在第 1 组结果的基础上采用梯度稀释法,35 ℃培养 24 h 后进一步确定痰热清的 MIC 值;第 3 组采用对倍稀释法,35 ℃培养 24 h 后测

定特治星的 MIC 值;第 4、5 组为二者联合应用,各自分为 10 个小组,在痰热清作用 6 h 后再加入特治星,其中第 4 组采用双方对倍稀释法,第 5 组痰热清采用梯度递减稀释法、特治星采用对倍稀释法,35 ℃培养 24 h 后对抑菌情况进行测定。各组痰热清和特治星浓度,见表 1~2。

表 1 各组痰热清浓度(μL/mL)

组别	试管编号									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
第 1 组	900	450	225	112.5	56.25	28.125	14.063	7.031	3.516	1.758
第 2 组	900	850	800	750	700	650	600	550	500	450
第 4 组	450	225	112.5	56.25	28.125	14.063	7.031	3.516	1.758	0.879
第 5 组	500	450	400	350	300	250	200	150	100	50

表 2 各组特治星浓度(μg/mL)

组别	试管编号									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
第 3 组	900	450	225	112.5	56.25	28.125	14.063	7.031	3.516	1.758
第 4 组	450	225	112.5	56.25	28.125	14.063	7.031	3.516	1.758	0.879
第 5 组	450	225	112.5	56.25	28.125	14.063	7.031	3.516	1.758	0.879

2 结 果

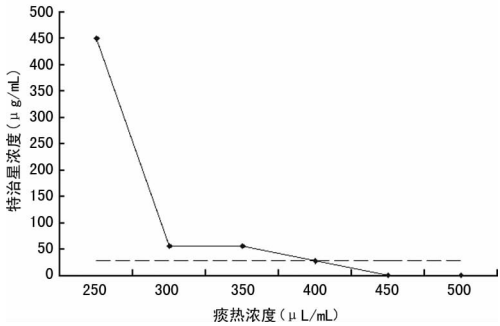
2.1 各组试验现象 第 1 组的管 1 无细菌生长,管 2~10 均浑浊;第 2 组管 1~4 无细菌生长,管 5~10 均浑浊;第 3 组管 1~6 无细菌生长,管 7~10 均浑浊;第 4 组的第 1 小组前 2 管无细菌生长,后 8 管浑浊,第 2~10 小组均为第 1 管无细菌生长,2~10 管浑浊;第 5 组的第 1 小组为前 6 管无细菌生长,后 4 管浑浊,第 2~4 小组均为前 5 管无细菌生长,后 5 管浑浊,第 5 小组为前 3 管无细菌生长,后 7 管浑浊,第 6~10 小组为前两管无细菌生长,后 8 管浑浊。

2.2 抑菌试验结果 痰热清注射液对产 ESBLs 肺炎克雷伯菌的 MIC 值为 750 μL/mL,特治星对产 ESBLs 肺炎克雷伯菌的 MIC 值为 28.125 μg/mL;当加入痰热清作用 6 h 后再加入特治星,痰热清最终浓度大于 450 μL/mL 时,可以使特治星的用量较单用时至少减少 5 倍。其作用效果见图 1。

调节等作用。其中黄芩为君药,具有泻火解毒、清热燥湿的功效;熊胆粉、山羊角为臣药,其中熊胆粉的有效成分熊去氧胆酸与鹅去氧胆酸具有清热、平肝及明目的功效,二者都有加强黄芩功效的作用;连翘具有清热解毒、疏风散结的功效;金银花具有解表、宣肺和清热解毒的作用^[5]。有报道显示,痰热清联合阿奇霉素治疗小儿支原体性支气管肺炎的疗效优于单独使用阿奇霉素^[6-7]。另有报道表明,在铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌导致的肺部感染治疗中,痰热清联合西药更具优势^[8-9],此外,有研究表明,单用痰热清或痰热清联合利巴韦林治疗手足口病的效果无明显差异,但均优于单用利巴韦林的疗效^[10]。中药以其多方面的抑菌杀毒作用,在临床治疗中的重要性日益凸显,成为临床治疗不可或缺的一部分。

本研究结果显示,痰热清作用于产 ESBLs 肺炎克雷伯菌 6 h 后再加入特治星,当痰热清最终浓度大于 450 μL/mL 时,可使特治星的用量比单用时至少减少 5 倍。与同时试验的二者同时加入相比,间隔 6 h 可以更大幅度地减少抗菌药物的用量,减少二者同时应用时可能发生的互相干涉现象,更好地发挥各自的功效。中药的应用首先降低了细菌的耐药性,从而使抗菌药物的抑菌效果更加明显。其根本原因可能是中药可以消除耐药菌的 R 质粒,或者妨碍甚至阻断 R 质粒在细菌间的传播途径,抑制细菌主动外排泵,抑制耐药基因的表达,以及干扰细菌的代谢。同时痰热清能增强人体自身的免疫功能,使人体对外界的抵抗力增强,从而达到降低细菌耐药性的作用。

综上所述,痰热清与特治星间隔 6 h 联合应用具有明显的抑菌效果,能大幅度地减少抗菌药物的用量,这对临床治疗的改善和减少耐药菌株的产生都具有积极意义。在后续研究中,需对浓度 450~750 μL/mL 的痰热清联合特治星的抑菌作用进行试验,并且可以加大试验菌株量,以更完整地表述痰热清与特治星联合应用的抑菌效果,确保对临床用(下转第 635 页)



注:虚线代表单用特治星的 MIC 值(MIC=28.125 μg/mL)。

图 1 痰热清联合特治星(间隔 6 h)抑菌效果曲线图

3 讨 论

痰热清注射液由黄芩、熊胆粉、山羊角、金银花、连翘组成,具有清热解毒、解痉、镇静止咳、祛痰平喘、抗菌抗病毒及免疫

小球毛细血管壁滤过,99.9%被近曲小管重吸收并降解^[8]。在排除恶性肿瘤、自身免疫性疾病、慢性肝炎等疾病造成机体自身合成大量 β_2 -MG 外,血清 β_2 -MG 水平上升反映肾小球滤过率下降,而尿 β_2 -MG 水平增加提示肾小管功能受损,因此可作为评价肾小管功能受损的敏感指标,还可以反映肾小管受损的严重程度^[9]。

HbA1C 是红细胞中血红蛋白的非酶促糖基化反应产物,是目前评价 DM 血糖控制情况的金标准,不仅可以反映测定前 8~12 周的平均血糖水平,还可以预示 DM 患者微血管病变的发生。研究表明,HbA1C 与肾脏微血管损伤密切相关,是 DN 发生、发展的独立危险因素,HbA1C 越高,肾脏微血管损伤越严重^[10]。高血糖和高 HbA1C 可影响红细胞携氧和释放氧气的功能而导致肾脏缺氧;此外,还可以使红细胞变形能力降低、血液黏度增高,加重肾脏缺血、缺氧,从而导致血管内皮细胞损伤,肾小球基底膜增厚、通透性增加,肾小球滤过率增加等。而且,HbA1C 等糖基化终末产物还可以增加内皮细胞对 Hey 损伤的敏感性,进一步加重血管内皮细胞的损伤,最终促使清蛋白尿的形成,导致 DN 的发生^[11]。

本研究结果显示,DM 组和早期 DN 组血清 Hcy、Cys C、尿 β_2 -MG 和全血 HbA1C 均高于 NC 组;且上述观察指标随病情迁延增加更明显,早期 DN 组血清 Hcy、Cys C 和尿 β_2 -MG 高于 DM 组,组间比较差异有统计学意义($P<0.05$),与国内外研究结果一致^[12]。本研究结果还显示,上述 4 个观察指标联合检测阳性检出率高于单一指标的阳性检出率,更有利于检出早期肾功能损伤,及时进行防治。此外,通过进一步绘制 ROC 曲线显示,上述 4 个指标对早期 DN 的诊断均具有较高的诊断效能,提示能有效地协助临床诊断早期 DN。

综上所述,血清 Hcy、Cys C、尿 β_2 -MG 和全血 HbA1C 在糖尿病早期肾损害时即有明显改变,早期、定期、联合检测有助于 DN 的及时诊断及病情监测,对延缓 DN 的进展及预防终末期肾病有重要的临床意义。

参考文献

[1] 邹丽娟,张浩.血清 HCY 及尿 NAG、 β_2 -MG、mALB 对糖尿病肾病的应用价值[J].中国实验诊断学,2013,17(6):1141-1142.

[2] 李剑波,成玉泽,戴庆,等.血浆同型半胱氨酸水平对于 2

型糖尿病早期肾病的独立预测意义[J/CD].中华临床医师杂志:电子版,2010,4(5):574-577.

[3] 韩素英,依力夏提·依麻木,田刚.2 型糖尿病肾病患者血清胱抑素 C 和同型半胱氨酸相关性分析[J].检验医学与临床,2011,8(17):2095-2096.

[4] Schottker B,Herder C,Muller H,et al. Clinical utility of creatinine-and cystatin C-based definition of renal function for risk prediction of primary cardiovascular events in patients with diabetes[J].Diabetes Care,2012,35(4):879-886.

[5] Yoo JS, Lee YM, Lee EH, et al. Serum cystatin C reflects the progress of albuminuria[J].Diabetes Metab J,2011,35(6):602-609.

[6] 冯文忠,安云,张仁虎. CTGF、胱抑素 C 和尿 β_2 -MG 联合检测在糖尿病肾病早期病变中的诊断价值[J].现代检验医学杂志,2013,28(2):96-98.

[7] 申斯曼,胡素颖.血清胱抑素 C 在肾脏疾病患者中的临床研究[J].检验医学与临床,2011,8(6):729-730.

[8] 曲旭亮. Cys C、NAG 和 β_2 -MG 在糖尿病肾病早期损害的临床诊断意义[J].医学检验与临床,2013,24(1):60-61.

[9] 李霞,尹学亮,谭文泽,等. 血尿 β_2 微球蛋白变化在无症状高尿酸血症早期肾损害中的临床意义[J].医药前沿,2012,2(16):61-62.

[10] 梁柏林,刘春林,彭桂坚,等. 2 型糖尿病患者糖化血红蛋白水平与糖尿病肾病的关系[J].检验医学与临床,2013,10(8):929-930.

[11] 黎桂芳.尿微量白蛋白与糖化血红蛋白检测在糖尿病肾病诊断中的临床意义[J].中外医学研究,2013,11(31):57-58.

[12] Wang TK, Wang Q, Wang ZM, et al. Diagnostic value of the combined measurement of serum Hcy, serum Cys C, and urinary microalbumin in type 2 diabetes mellitus with early complicating diabetic nephropathy[J].ISRN Endocrinol,2013(2013):1-5.

(收稿日期:2014-10-15 修回日期:2014-12-10)

(上接第 632 页)
药的指导意义。

参考文献

[1] 李伟铭,马厚勋.痰热清联合抗菌药物治疗老年肺部感染 35 例临床体会[J].中国中医急症,2009,18(5):804.

[2] 孟凡威,徐太林,李鲁娟.阿昔洛韦联合痰热清治疗婴幼儿呼吸道合胞病毒肺炎疗效观察[J].中国医疗前沿,2010,5(11):48.

[3] 吕楠,于淑英,贾英民.痰热清注射液治疗老年性社区获得性肺炎疗效观察[J].人民军医,2013,56(3):317-319.

[4] Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standard for antimicrobial Susceptibility testing; 20th informational supplement [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2010.

[5] 冯传咸,彭曙辉.痰热清注射液治疗儿童疱疹性咽峡炎 80 例[J].中医药导报,2013,19(5):101-102.

[6] 罗钦宏,梁锦枝,黄艳琼,等.痰热清联合阿奇霉素治疗小儿支原体肺炎的疗效及安全性的 Meta 分析[J].中成药,2014,36(4):702-709.

[7] 许丹彦.痰热清联合阿奇霉素治疗小儿支原体肺炎对比分析[J].中国慢性病预防与控制,2011,19(6):631-632.

[8] 刘瑶,马晓俞,徐航,等.痰热清对 ICU 铜绿假单胞菌肺部感染的临床研究[J].临床肺科杂志,2014,19(6):974-976.

[9] 刘瑶,马晓俞,陈淑萍,等.痰热清辅助治疗鲍曼不动杆菌肺部感染的疗效观察[J].中国感染控制杂志,2014,13(3):134-137.

[10] 梁锦枝,罗钦宏,方乙生,等.痰热清注射液治疗手足口病疗效评价的 Meta 分析[J].中国循证医学杂志,2013,13(12):1446-1454.

(收稿日期:2014-10-15 修回日期:2014-11-20)