

· 临床药学 ·

痰热清联合亚胺培南或米诺环素对广泛耐药肺炎克雷伯菌的体外抑菌作用

马冬梅, 陶庆春, 齐宏伟

北京中医药大学第三附属医院检验科, 北京 100029

摘要: **目的** 探讨痰热清注射液联合亚胺培南或米诺环素对广泛耐药肺炎克雷伯菌的联合抑菌效果。**方法** 应用肉汤稀释法测定痰热清注射液联合亚胺培南、米诺环素单独或联合用药对 30 株广泛耐药肺炎克雷伯菌的最低抑菌浓度(MIC),统计单独及联合用药 MIC 分布、计算部分抑菌浓度(FIC)指数,判定联合用药的抑菌效果。**结果** 痰热清与亚胺培南联合用药后,其各自 MIC 值范围、半数 MIC(MIC_{50})、90% MIC(MIC_{90}) 分别比单独用药有所降低;痰热清与米诺环素联合用药后,MIC 值范围、 MIC_{90} 分别比单独用药升高。痰热清联合亚胺培南 FIC 指数结果显示,FIC 指数 ≤ 0.5 为 43.3%, $0.5 < FIC$ 指数 ≤ 1 为 30.0%, $1 < FIC \leq 2$ 为 20.0%, $FIC > 2$ 为 6.7%;痰热清联合米诺环素 FIC 指数结果显示,FIC 指数 ≤ 0.5 为 0, $0.5 < FIC$ 指数 ≤ 1 为 0, $1 < FIC \leq 2$ 为 43.3%, $FIC > 2$ 为 56.7%。**结论** 痰热清联合亚胺培南对广泛耐药肺炎克雷伯菌多数表现为协同作用和相加作用,体外联合抑菌作用较好;而痰热清与米诺环素联合多数表现为无关作用和拮抗作用,对广泛耐药肺炎克雷伯菌的体外联合抑菌作用较差。**关键词:** 痰热清; 亚胺培南; 米诺环素; 肺炎克雷伯菌, 广泛耐药; 部分抑菌浓度; 最低抑菌浓度; 抑菌效果
中图分类号: R 965 文献标识码: B 文章编号: 1674-8182(2019)04-0549-03

Inhibitory effect of Tanreqing combined with imipenem or minocycline on extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* in vitro

MA Dong-mei, TAO Qing-chun, QI Hong-wei

Department of Clinical Laboratory, Beijing University of Chinese Medicine Third Affiliated Hospital, Beijing 100029, China

Corresponding author: TAO Qing-chun, E-mail: taoqc@sohu.com

Abstract: Objective To investigate the bacteriostatic efficacy in vitro for extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* of tanreqing injection alone or combined with imipenem or minocycline. **Method** Using broth dilution method, the minimal inhibitory concentration (MIC) of tanreqing injection alone or combined with imipenem or minocycline for extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* of 30 strains were determined. The MIC distributions of single and combined medication were counted, and the fractional inhibitory concentration (FIC) index was calculated to judge the bacteriostatic efficacy of combined medication. **Results** After combined medication of tanreqing plus imipenem, the ranges of MIC, MIC_{50} and MIC_{90} were lower than those of single medication, respectively. After combined medication of tanreqing plus minocycline, the ranges of MIC, MIC_{50} and MIC_{90} were higher than those of single medication, respectively. FIC indexes of ≤ 0.5 , > 0.5 to ≤ 1 , > 1 to ≤ 2 and > 2 for tanreqing plus imipenem accounted for 43.3%, 30.0%, 20.0% and 6.7%, respectively. FIC indexes of ≤ 0.5 , > 0.5 to ≤ 1 , > 1 to ≤ 2 and > 2 for tanreqing plus minocycline accounted for 0, 0, 43.3% and 56.7%, respectively. **Conclusions** Most of the effects of tanreqing combined with imipenem on extensive drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* are synergistic and additive with better combined bacteriostatic effect in vitro. Most of the effects of tanreqing combined with minocycline are irrelevant and antagonistic with poor combined bacteriostatic effect in vitro.

Key words: Tanreqing; Imipenem; Minocycline; *Klebsiella pneumoniae*, extensively drug-resistant; Fractional inhibitory concentration; Minimum inhibitory concentration; Bacteriostatic efficacy

肺炎克雷伯菌广泛存在于自然界,是临床感染常见病原菌之一。近年来随着抗生素的大量使用,肺炎

克雷伯菌对抗生素耐药率呈上升趋势,广泛耐药株检出率也明显上升^[1-2]。广泛耐药是指细菌除对多粘

菌素、替加环素可能敏感外,对临床上常见的抗生素全部耐药,对于广泛耐药的革兰阴性菌感染临床上常采用两、三种抗生素联合用药。痰热清为临床常用中药制剂,具有清热解毒功效,有研究表明其具有一定抗菌作用^[3-4];药敏监测结果显示肺炎克雷伯菌对亚胺培南和米诺环素耐药率相对较低。

本试验采用肉汤稀释法测定痰热清、亚胺培南、米诺环素各自的最低抑菌浓度(MIC)以及不同浓度组合的痰热清和亚胺培南、痰热清和米诺环素对 30 株临床分离广泛耐药肺炎克雷伯菌联合作用的 MIC,计算联合用药部分抑菌浓度(FIC)指数,分析痰热清与抗生素的联合抑菌效果,为广泛耐药肺炎克雷伯菌抗感染治疗提供试验依据和新的思路。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 30 株试验菌均来自我院临床分离(采集日期从 2016 年 1 月 17 日至 2017 年 6 月 21 日,排除同一患者重复株),通过鉴定为肺炎克雷伯菌,药敏结果遵照 CLSI M100-S27 执行,选出广泛耐药株(30 株菌药敏结果显示:对青霉素类、头孢菌素类、 β -内酰胺/ β -内酰胺抑制剂类、喹诺酮类、氨基糖苷类、碳青霉烯类、四环素类和复方新诺明均耐药),质控菌:大肠埃希菌 ATCC25922。

1.2 培养基 血平板(OXOID 公司)、麦康凯平板(OXOID 公司)、M-H 琼脂培养基(OXOID 公司)、M-H 肉汤培养基(OXOID 公司)。

1.3 试验药物 痰热清注射液(上海凯宝药业,批号:1606303)、注射用亚胺培南西司他丁钠(杭州默沙东制药,批号:M029976)、盐酸米诺环素胶囊(惠氏制药,批号:M33252)。

1.4 仪器设备 电子分析天平(赛多利斯)、Phoenix100 自动微生物鉴定药敏分析仪(BD 公司)、比浊仪(BD 公司)、电热恒温培养箱、1 000 μ l 微量加样器、玻璃试管若干。

1.5 试验方法

1.5.1 试验菌液配制 分别取 30 株鉴定分纯的广泛耐药肺炎克雷伯菌菌落,用生理盐水配置成 0.5 麦氏比浊,再用 M. H 肉汤稀释 10 倍备用。

1.5.2 MIC 测定 取痰热清原液 8 ml 加入 2 ml 生理盐水,配制成 80% 痰热清药液,再依次对倍稀释,配制试验所需痰热清浓度范围 80% ~ 0.625%;分析天平称量亚胺培南、米诺环素,配制原始药液浓度,然后取玻璃试管用 M. H 肉汤对倍稀释配制成如下浓度范围:亚胺培南 2 048 ~ 16 μ g/ml、米诺环素 2 048 ~

16 μ g/ml。上述系列浓度共配制 30 组,将 30 株试验菌分别加入上述各组试管中,试验菌液加入量 50 μ l,同时做空白和阳性对照,35 $^{\circ}$ C 培养 24 h,测定并记录痰热清、亚胺培南、米诺环素对 30 株菌的 MIC。

1.5.3 联合抑菌试验 根据痰热清、亚胺培南、米诺环素的 MIC 结果,配制各药物 2 倍 MIC 为最高稀释浓度,依次对倍稀释成 8 个浓度,采用棋盘法将不同浓度痰热清和亚胺培南各 0.5 ml 加入试管,再向每组试管药液中加入试验菌液 50 μ l,35 $^{\circ}$ C 培养 24 h。根据 30 株试验菌 MIC 结果,按上述方法配制 30 组棋盘浓度,记录各组痰热清和亚胺培南联用,最佳组合效应时各自的 MIC 值,分别计算痰热清和亚胺培南对 30 株试验菌 FIC 指数。痰热清和米诺环素联合抑菌试验和计算方法同上。

1.5.4 结果判读 计算 FIC 指数,FIC 指数 = 甲药联合的 MIC/甲药单用的 MIC + 乙药联合的 MIC/乙药单用的 MIC。FIC 指数 ≤ 0.5 为两药联合协同作用,0.5 < FIC ≤ 1 为两药联合相加作用,1 < FIC ≤ 2 为两药联合无关作用,FIC > 2 为两药联合拮抗作用。

2 结 果

2.1 药物单用及联合应用 MIC 结果 痰热清与亚胺培南联合用药后,MIC 值范围、半数 MIC(MIC₅₀)、90% MIC(MIC₉₀) 分别比单独用药有所降低;痰热清与米诺环素联合用药以后,MIC 值范围、MIC₉₀ 分别比单独用药升高。见表 1、表 2。

2.2 浓度-累积抑菌百分率曲线 痰热清与米诺环素联合与单用比较,浓度-累积抑菌百分率曲线发生轻微右移,说明两者联合应用各自 MIC 值在一范围内有所升高;痰热清与亚胺培南联合与单用比较,浓度-累积抑菌百分率曲线发生了明显的左移,表明联合用药可以增强抑菌作用。见图 1、图 2。

2.3 两药联合应用 FIC 指数分布 痰热清联合亚胺培南 FIC 指数结果显示:FIC 指数 ≤ 0.5 为 43.3%,0.5 < FIC 指数 ≤ 1 为 30.0%,1 < FIC ≤ 2 为 20.0%,FIC > 2 为 6.7%;痰热清联合米诺环素 FIC 指数结果显示:FIC 指数 ≤ 0.5 为 0,0.5 < FIC 指数 ≤ 1 为 0,1 < FIC ≤ 2 为 43.3%,FIC > 2 为 56.7%。见表 3。

表 1 单用痰热清、亚胺培南及两药联用 MIC 值范围

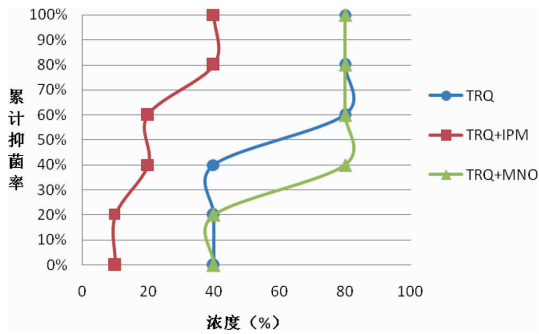
药物	单用 MIC			联用 MIC		
	MIC 范围	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC 范围	MIC ₅₀	MIC ₉₀
痰热清(%)	40 ~ 80	80	80	10 ~ 40	20	40
亚胺培南(μ g/ml)	64 ~ 512	128	256	32 ~ 256	64	128

表 2 单用痰热清、米诺环素及两药联用 MIC 值范围

药物	单用 MIC			联用 MIC		
	MIC 范围	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC 范围	MIC ₅₀	MIC ₉₀
痰热清 (%)	40~80	80	80	40~80	80	80
米诺环素 (μg/ml)	16~32	32	32	16~64	32	64

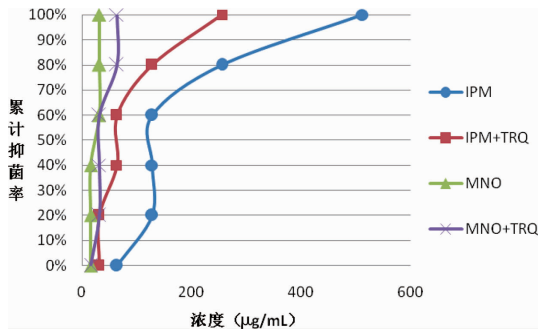
表 3 痰热清与亚胺培南、米诺环素联用 FIC 指数分布 [n(%)]

组合药物	FIC 指数			
	≤0.5	0.5 < FIC ≤ 1	1 < FIC ≤ 2	FIC > 2
痰热清联合亚胺培南	13(43.3)	9(30.0)	6(20.0)	2(6.7)
痰热清联合米诺环素	0	0	13(43.3)	17(56.7)



注:痰热清 (TRQ)、亚胺培南 (IPM)、米诺环素 (MNO)。

图 1 痰热清单用以及与亚胺培南、米诺环素联用浓度—累积抑菌百分率曲线



注:痰热清 (TRQ)、亚胺培南 (IPM)、米诺环素 (MNO)。

图 2 亚胺培南、米诺环素单用以及与痰热清联用浓度—累积抑菌百分率曲线

3 讨论

由于抗生素广泛使用,肺炎克雷伯菌耐药率及耐药菌株检出率也逐年上升^[5],给临床抗感染治疗带来很大困难。广泛耐药革兰阴性菌感染诊治专家共识指出:耐药革兰阴性菌应选择两种甚至三种抗生素联合方案治疗^[6]。清热解毒类中药联合抗生素对抗感染也越来越被临床广泛研究和应用^[7-9]。

痰热清为临床常用中药制剂,由黄芩、熊胆粉、山羊角、金银花、连翘组成,具有清热、化痰、解毒的功效,现代药理学研究表明其具有一定抗菌作用^[10-12]。鉴凤梅等^[13]将痰热清和阿奇霉素联合,革兰阴性杆菌和革兰阳性球菌对其敏感率均有明显提高。陆彭磊等^[14]将痰热清注射液与头孢他啶联合作用于铜绿

假单胞菌,通过计算 FIC 指数结果显示两者联合具有协同作用。本次试验从 MIC 分布范围、浓度—累积抑菌百分率曲线及两药联用 FIC 指数综合分析,结果表明痰热清和亚胺培南联合应用对广泛耐药肺炎克雷伯菌抑菌效果较好;痰热清和米诺环素联合应用对广泛耐药肺炎克雷伯菌抑菌效果较差。亚胺培南是临床治疗革兰阴性杆菌感染常用抗生素之一、在我院及全国细菌耐药检测数据显示革兰阴性杆菌及肺炎克雷伯菌对其耐药率较低,本试验痰热清与亚胺培南联合应用也显示了很好的体外联合抑菌效果,明显优于与米诺环素联合。鉴于本试验为体外抑菌试验,在体内联合用药时要选择合理的剂型和剂量,避免不良反应的发生^[15]。中西药联合应用改变 MIC 的机制可能与改变细胞膜通透性、影响细胞壁某组分的合成等原因有关,具体机制尚需进一步研究。

参考文献

- [1] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2015 年 CHINET 细菌耐药性监测 [J]. 中国感染与化疗杂志,2016,16(6):685-694.
- [2] 胡付品,郭燕,朱德妹,等. 2016 年 CHINET 细菌耐药性监测 [J]. 中国感染与化疗杂志,2017,17(5):481-491.
- [3] 高益民,王农山. 对痰热清注射液临床药学初步评价 [J]. 首都医药,2014,25(12):44-46
- [4] 王芳,熊利芳. 痰热清注射液联合利巴韦林治疗小儿手足口病疗效观察 [J]. 中国中医急症,2014,23(6):1148-1149
- [5] 侯芳,吕媛. 不容忽视的细菌耐药 [J]. 中国抗生素杂志,2017,42(3):203-206
- [6] 王明贵译. 广泛耐药革兰阴性菌感染的实验诊断、抗菌治疗及医院感染控制:中国专家共识 [J]. 中国感染与化疗杂志,2017(17):82-92
- [7] 徐海瑛,王树芳,王丽,等. 双黄连口服液联合庆大霉素的体外抗菌作用研究 [J]. 医药导报,2013,32(1):19-22
- [8] 张伟,包俊. 双黄连联合氯唑西林钠对金葡萄球菌耐药株的抗菌作用研究 [J]. 中国中医药科技,2013,20(3):245-246
- [9] 杨洋. 痰热清联合阿奇霉素治疗小儿支原体肺炎的临床研究,中国医药指南,2018,16(7):174-175
- [10] 王丹利,简桂花,汪年松. 中草药抗菌作用的研究进展 [J]. 中国中西医结合肾病杂志,2014,15(11):1021-1023
- [11] 陶敏,赵文静,汪建伟,等. 熊胆粉的药理作用及临床应用研究进展 [J]. 中医药信息,2013,30(3):153-155
- [12] 施高翔,邵菁,汪天明,等. 黄芩及其有效成分抗菌作用新进展 [J]. 中国中药杂志,2014,39(19):3713-3718
- [13] 鉴凤梅,戴玉娜,苏县辉,等. 痰热清注射液联合阿奇霉素抑菌作用 [J]. 医药卫生,2016,5(1):176
- [14] 陆彭磊,蔡少平. 痰热清注射液与喜炎平注射液联合头孢他啶体外抗菌试验研究 [J]. 中国中医急症,2018,27(2):296-299
- [15] 练祥,胡爱荣. 痰热清注射液的不良反应防治及其防治 [J]. 医药导报,2013,32(6):821-823.