

论著·临床研究

# 痰热清注射液联合亚胺培南和头孢哌酮/舒巴坦对广泛耐药肺炎克雷伯菌体外抑菌研究

马冬梅,陶庆春<sup>△</sup>,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和头孢哌酮/舒巴坦对广泛耐药肺炎克雷伯菌的体外联合抑菌效果。方法 应用肉汤稀释法测定痰热清注射液联合亚胺培南和头孢哌酮/舒巴坦对 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的 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。FIC 指数 $<0.5$ 为协同作用, $0.5\sim<1$ 为相加作用, $1\sim<2$ 为无关作用, $\geq 2$ 为拮抗作用。结果 痰热清注射液联合亚胺培南的 FIC 指数 $<0.5$ 为 43.3%, $0.5\sim<1$ 为 30.0%, $1\sim<2$ 为 20.0%, $\geq 2$ 为 6.7%;痰热清注射液联合头孢哌酮/舒巴坦的 FIC 指数 $<0.5$ 为 0, $0.5\sim<1$ 为 13.3%, $1\sim<2$ 为 33.3%, $\geq 2$ 为 53.3%。结论 痰热清注射液联合头孢哌酮/舒巴坦对广泛耐药肺炎克雷伯菌多表现为无关作用和拮抗作用;痰热清注射液联合亚胺培南多表现为协同作用和相加作用,对广泛耐药肺炎克雷伯菌的体外联合抑菌作用较好。

**关键词:**微生物敏感性试验; 克雷伯菌,肺炎; 抗药性,细菌; 头孢哌酮/舒巴坦; 亚胺培南; 痰热清注射液

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.01.003

中图法分类号:R446.5;R378.996

文章编号:1673-4130(2019)01-0008-05

文献标识码:A

## In vitro antibacterial study of tanreqing injection combined with Imipenem and cefoperazone/sulbactam for extensively drug resistant Klebsiella pneumoniae

MA Dongmei, TAO Qingchun<sup>△</sup>, QI Hongwei

(Department of Clinical Laboratory, Beijing University of Chinese Medicine of third Affiliated Hospital, Beijing 100029, China)

**Abstract: Objective** To discuss antibacterial effect of Tanreqing injection combined with Imipenem and Cefoperazone/sulbactam on extensively drug resistant Klebsiella pneumoniae in vitro. **Methods** This experiment use the broth dilution method to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of the different concentrations of Tanreqing injection and Imipenem, Tanreqing injection and cefoperazone/sulbactam in 30 strains of the clinical extensively drug resistant Klebsiella pneumoniae, the fractional inhibitory concentration (FIC) index was calculated to determine the combined effect of the antibiotics. **Results** FIC index results of Tanreqing combined with Imipenem showed: FIC $<0.5$  is 43.3%,  $0.5 < \text{FIC} \leq 1$  is 30%,  $1 < \text{FIC} \leq 2$  is 20%, FIC $>2$  is 6.7%, FIC index results of Tanreqing combined with Cefoperazone/sulbactam showed: FIC $<0.5$  is 0%,  $0.5 < \text{FIC} \leq 1$  is 13.3%,  $1 < \text{FIC} \leq 2$  is 33.3%, FIC $>2$  is 53.3%. **Conclusion** The combined effect of tanreqing injection and cefoperazone/sulbactam is most irrelevant and antagonistic effect, the combined effect is worse. the combined effect of Tanreqing injection and Imipenem is most synergistic and additive effect, the combined effect is better.

**Key words:** microbial sensitivity tests; Klebsiella pneumoniae; drug resistance, bacterial; cefoperazone/sulbactam; imipenem; tanreqing injection

肺炎克雷伯菌是一种条件致病菌,广泛存在于自然界,是临床感染常见的病原菌之一。近年来,随着抗菌药物的大量使用,广泛耐药肺炎克雷伯菌检出率

明显上升。广泛耐药是指细菌除对黏菌素、替加环素可能敏感外,对临床常见抗菌药物全部耐药,对广泛耐药革兰阴性菌感染常采用 2、3 种抗菌药物联合用

作者简介:马冬梅,女,副主任技师,主要从事中药抑菌相关研究。△ 通信作者,E-mail:taoqc@sohu.com。

本文引用格式:马冬梅,陶庆春,齐宏伟.痰热清注射液联合亚胺培南和头孢哌酮/舒巴坦对广泛耐药肺炎克雷伯菌体外抑菌研究[J].国际检验医学杂志,2019,40(1):8-11.

药。本研究选用的痰热清注射液为临床常用中药制剂,具有清热、化痰、解毒等功效,现代药理学研究表明,其具有一定的抗病毒、抗细菌、抗氧化等作用<sup>[1-2]</sup>;亚胺培南和头孢哌酮/舒巴坦均为临床治疗肺炎克雷伯菌的常用抗菌药物,并与其他抗菌药物比较,其耐药率较低<sup>[3-5]</sup>。本研究采用肉汤稀释法测定不同浓度组合的痰热清注射液联合亚胺培南、痰热清注射液联合头孢哌酮/舒巴坦对 30 株临床分离的广泛耐药肺炎克雷伯菌的最低抑菌浓度(MIC),绘制单用及联用的 MIC 分布图,计算联用的部分抑菌浓度(FIC)指数,分析痰热清注射液与抗菌药物的联合抑菌作用,旨在为广泛耐药肺炎克雷伯菌感染提供新的治疗思路。

### 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 30 株试验菌均为 2016 年 1 月 17 日至 2017 年 6 月 21 日本院临床分离株,排除同一患者重复株,通过微生物鉴定系统鉴定为肺炎克雷伯菌,药敏试验结果遵照美国临床和实验室标准化协会 M100-S27 执行,选出广泛耐药株(30 株菌药敏试验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、氨基苷类、碳青霉烯类、四环素类和复方磺胺甲噁唑均耐药),质控菌为大肠埃希菌 ATCC25922。

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

**1.3 试验药物** 痰热清注射液(上海凯宝药业股份有限公司,批号:1606303)、注射用亚胺培南/西司他丁钠(默沙东制药有限公司,批号:M029976)、头孢哌酮/舒巴坦(头孢哌酮/舒巴坦为 2:1,辉瑞制药,批号:1539364)等。

**1.4 仪器设备** 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 μL 微量加样器、200 μL 微量加样器、玻璃试管等。

### 1.5 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,配置 0.5 麦氏比浊,再用 M-H 肉汤稀释 10 倍备用。

**1.5.2 MIC 测定** 取痰热清注射液原液 8 mL 加 2 mL 生理盐水配制成 80%痰热清注射液药液,再依次对倍稀释,配制试验所需痰热清注射液浓度为 80%至 0.625%;用分析天平称量亚胺培南、头孢哌酮/舒巴坦,配制原始药液浓度,用 M-H 肉汤对倍稀释配制成如下浓度范围:亚胺培南为 2 048 μg/mL 至 16 μg/mL,头孢哌酮/舒巴坦 2 048 μg/mL 至 16 μg/mL。上述 3 种药物系列浓度共配制 30 组,将 30 株试验菌分别加入上述各组试管中,试验菌液加入量为 50 μL,同时,做空白和阳性对照,35 °C 培养 24 h,测定并记录痰热清注射液、亚胺培南、头孢哌酮/舒巴坦对 30 株菌的 MIC。

**1.5.3 联合抑菌试验** 根据 30 株试验菌 MIC 结果,以 2 倍 MIC 为最高稀释浓度,对倍稀释分别配制 30 组痰热清注射液、亚胺培南 8 个浓度,采用棋盘法将不同浓度痰热清注射液和亚胺培南各 0.5 mL 两两组合加入试管,混合后每管药液 1 mL,再向每组各管药液中加入试验菌液 50 μL,35 °C 培养 24 h,记录最佳组合效应时两药联用时各自的 MIC 值,计算 FIC 指数。痰热清注射液与头孢哌酮/舒巴坦联合抑菌试验方法同上。

**1.5.4 结果判读** 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,计算 FIC 指数。FIC 指数 < 0.5 为协同作用,0.5 ~ < 1 为相加作用,1 ~ < 2 为无关作用,≥ 2 为拮抗作用。

### 2 结果

**2.1 药物单用及联用的 MIC** 痰热清注射液与亚胺培南联用后 MIC、MIC<sub>50</sub>、MIC<sub>90</sub> 分别比单用有所降低;痰热清注射液与头孢哌酮/舒巴坦联药后 MIC、MIC<sub>90</sub> 分别与单用相比没有明显降低,头孢哌酮/舒巴坦联用 MIC<sub>50</sub> 反而升高了 1 倍。见表 1~4。

表 1 痰热清注射液、亚胺培南、头孢哌酮/舒巴坦单用及联用对广泛耐药肺炎克雷伯菌的 MIC

序号	痰热清注射液 (%)	亚胺培南 (μg/mL)	头孢哌酮/舒巴坦 (μg/mL)	亚胺培南(μg/mL) 联合痰热清注射液 (%)	头孢哌酮/舒巴坦(μg/mL) 联合痰热清注射液 (%)
1	80	256	256	256/40	256/80
2	80	128	256	128/40	512/80
3	80	256	256	128/20	512/80
4	40	128	256	256/40	512/80
5	80	512	256	64/10	512/80
6	80	256	256	64/10	512/80
7	80	512	512	64/10	256/40
8	80	512	512	256/40	256/80

续表 1 痰热清注射液、亚胺培南、头孢哌酮/舒巴坦单用及联用对广泛耐药肺炎克雷伯菌的 MIC

序号	痰热清注射液 (%)	亚胺培南 (μg/mL)	头孢哌酮/舒巴坦 (μg/mL)	亚胺培南 (μg/mL) 联合痰热清注射液 (%)	头孢哌酮/舒巴坦 (μg/mL) 联合痰热清注射液 (%)
9	80	256	512	64/40	512/80
10	80	128	512	32/20	512/80
11	80	128	256	32/20	512/80
12	40	64	256	64/20	256/80
13	80	256	512	128/20	512/80
14	80	128	256	64/40	512/80
15	80	128	256	64/10	256/80
16	80	256	256	64/10	512/80
17	40	128	256	32/10	512/80
18	40	128	128	64/40	128/40
19	40	64	256	128/40	128/20
20	40	64	256	64/40	128/20
21	80	128	512	64/40	512/80
22	40	128	256	32/10	512/80
23	40	64	256	32/20	256/80
24	80	256	512	64/20	512/40
25	40	128	512	64/20	256/20
26	40	128	512	32/10	512/40
27	40	64	256	64/40	256/40
28	40	128	256	32/10	512/80
29	80	256	256	64/10	512/80
30	80	256	256	64/20	512/80

表 2 痰热清注射液、亚胺培南单用及联用对广泛耐药肺炎克雷伯菌的 MIC

药物浓度	单用			联用		
	范围	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	范围	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
痰热清注射液 (%)	40~80	80	80	10~40	20	40
亚胺培南 (μg/mL)	64~512	128	256	32~256	64	128

表 3 痰热清注射液、头孢哌酮/舒巴坦单用及联用对广泛耐药肺炎克雷伯菌的 MIC

药物浓度	单用			联用		
	范围	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	范围	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
痰热清注射液 (%)	40~80	80	80	20~80	80	80
头孢哌酮/舒巴坦 (μg/mL)	128~512	256	512	128~512	512	512

表 4 痰热清注射液与亚胺培南、头孢哌酮/舒巴坦联合应用 FIC 指数分布[n(%)]

药物名称	n	FIC 指数			
		<0.5	0.5~<1	1~<2	≥2
痰热清注射液联合亚胺培南	30	13(43.3)	9(30.0)	6(20.0)	2(6.7)
痰热清注射液联合头孢哌酮/舒巴坦	30	0(0.0)	4(13.3)	10(33.3)	16(53.3)

2.2 药物单用及联用的 MIC 分布 痰热清注射液 与亚胺培南联用的 MIC 分布较单用时明显左移,痰

热清注射液的 MIC 分布峰值由单用的 80% 降低为 40%，亚胺培南的 MIC 分布峰值由单用的 128 μg/mL 降低为 64 μg/mL；痰热清注射液与头孢哌酮/舒巴坦单用和联用的 MIC 分布峰值无变化，头孢哌酮/舒巴坦的 MIC 分布峰值由单用的 256 μg/mL 上升为 512 μg/mL。见图 1~4。

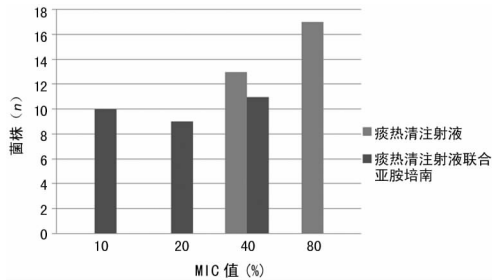


图 1 痰热清注射液单用、与亚胺培南联用 MIC 分布图

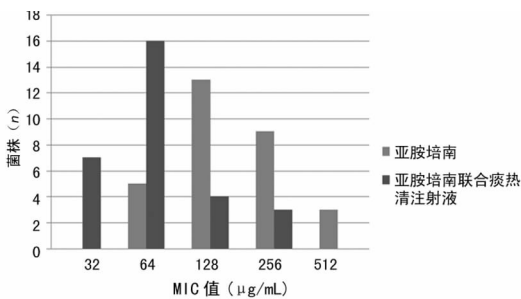


图 2 亚胺培南单用、与痰热清注射液联用 MIC 分布图

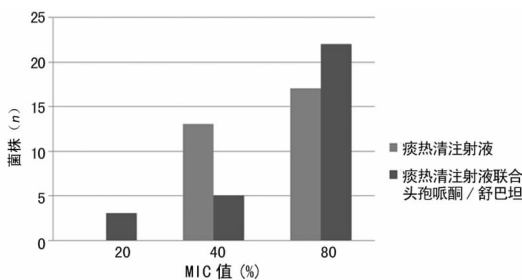


图 3 痰热清注射液单用、与头孢哌酮/舒巴坦联用 MIC 分布图

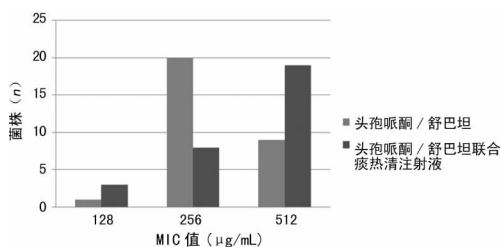


图 4 头孢哌酮/舒巴坦单用、与痰热清注射液联用 MIC 分布图

**2.3 两药联用的 FIC 指数分布** 痰热清注射液联合亚胺培南的 FIC 指数 < 0.5 为 43.3%，0.5~<1 为 30.0%，1~<2 为 20.0%，≥2 为 6.7%；痰热清注射液联合头孢哌酮/舒巴坦的 FIC 指数 < 0.5 为 0，0.5~<1 为 13.3%，1~<2 为 33.3%，≥2 为 53.3%。见表 4。

### 3 讨论

由于抗菌药物的广泛使用，使细菌耐药情况日益严重<sup>[6]</sup>。肺炎克雷伯菌耐药菌株检出率逐年上升，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 2 种甚至 3 种抗菌药物联合方案治疗<sup>[7]</sup>。中药联合抗菌药物越来越被临床广泛研究和应用<sup>[8-10]</sup>。

痰热清注射液为临床常用中药制剂，由黄芩、熊胆粉、山羊角、金银花、连翘等组成，具有清热、化痰、解毒等功效，主要用于治疗风温肺热病、痰热阻肺症，现代药理学研究表明，其具有一定抗菌作用。李亚娜等<sup>[11]</sup>将痰热清注射液与哌拉西林/他唑巴坦联用，结果显示，其对超广谱 β-内酰胺酶耐药肺炎克雷伯菌具有联合抑菌作用。闫春生等<sup>[12]</sup>将痰热清注射液联合头孢呋辛钠对抗金黄色葡萄球菌也表现出联合抑菌作用。陆彭磊等<sup>[13]</sup>将痰热清注射液与头孢他啶联用于抗铜绿假单胞，计算 FIC 指数为 0.375，二者联用表现为协同作用。

本研究药物单用及联用的 MIC 分布结果显示，痰热清注射液与亚胺培南联用的 MIC 分布较单用时明显降低；痰热清注射液与头孢哌酮/舒巴坦单用和联用的 MIC 分布范围及峰值无变化。痰热清注射液联合亚胺培南的 FIC 指数结果显示，以相加和协同作用为主，无拮抗作用；痰热清注射液联合头孢哌酮/舒巴坦 FIC 指数结果显示，以无关和拮抗作用为主，无协同作用。

亚胺培南和头孢哌酮/舒巴坦是临床治疗革兰阴性杆菌感染常用抗菌药物，本院及全国细菌耐药检测数据均显示，其对革兰阴性杆菌及肺炎克雷伯菌耐药率相对较低。头孢哌酮/舒巴坦对革兰阴性菌的抗菌活性较好<sup>[14]</sup>，但本研究结果显示，痰热清注射液联合头孢哌酮/舒巴坦体外用药对广泛耐药肺炎克雷伯菌联用的抑菌作用较差；痰热清注射液与亚胺培南体外联用对广泛耐药肺炎克雷伯菌抑菌作用较好。

中西药联用的抑菌机制可能与抑制细菌细胞膜的某些组分、抑制生物被膜形成等有关<sup>[15]</sup>。但其具体机制尚需进一步研究。鉴于本研究为体外抑菌试验，对体内联合用药效果如何尚有待于进一步临床研究验证。

### 4 结论

痰热清注射液联用亚胺培南以相加和协同作用为主，无拮抗作用；痰热清注射液联用头孢哌酮/舒巴坦以无关和拮抗作用为主，无协同作用。痰热清注射液联合亚胺培南对广泛耐药肺炎克雷伯菌的体外联合抑菌作用较好。

### 参考文献

[1] 楚爱景,程旭峰,王伟,等. 痰热清注射液(下转第 15 页)

- 情况[J]. 中华预防医学杂志, 2012, 46(5): 409-413.
- [2] 刘明波, 李镒冲, 刘世炜, 等. 2010 年中国人群高血压疾病负担[J]. 中华流行病学杂志, 2014, 35(6): 680-683.
- [3] 陈伟伟, 高润霖, 刘力生, 等. 《中国心血管病报告 2014》概要[J]. 中国循环杂志, 2015, 30(7): 617-622.
- [4] 胡大一, 王宏宇. 高血压病流行的全球趋势及对策[J]. 中国实用内科杂志, 2002, 22(4): 193-195.
- [5] WANG L, LI N, Yao X, et al. Detection of secondary causes and coexisting diseases in hypertensive patients: OSA and PA are the common causes associated with hypertension[J]. Biomed Res Int, 2017, 2017: 8295010.
- [6] 顾东风, JIANG H, 吴锡桂, 等. 中国成年人高血压患病率、知晓率、治疗和控制状况[J]. 中华预防医学杂志, 2003, 37(2): 84-89.
- [7] 中国高血压防治指南修订委员会. 中国高血压防治指南 2010[J]. 中华心血管病杂志, 2011, 39(7): 579-616.
- [8] 许明东, 马晓聪, 岳桂华. 高血压中医证型与血液指标的相关性研究进展[J]. 大众科技, 2015, 17(4): 96-99.
- [9] PRZYBYŁOWSKI P, WASILEWSKI G, KOC-ZÓRAWSKA E, et al. Kallistatin concentration and hypertension in heart transplant recipients[J]. Transplant Proc, 2018, 50(7): 2105-2109.
- [10] VRIGKOU E, TSANGARIS I, BONOVAS S, et al. Platelet and coagulation disorders in newly diagnosed patients with pulmonary arterial hypertension[J]. Platelets, 2018, 26(7): 1-6.
- [11] 夏乐敏, 王运律, 胡琦, 等. 慢性再障中医证型与多个因素相关性研究[J]. 世界中医药, 2012, 7(3): 204-207.
- [12] 朱志扬, 葛然, 刘广昊, 等. 社区老年 H 型高血压患病率及中医证型分布特点与相关因素研究[J]. 中医临床研究, 2018, 10(8): 7-10.
- [13] 李晓利, 范利, 张金花, 等. 老年人群血栓弹力图凝血综合指数的影响因素分析[J]. 中华保健医学杂志, 2017, 19(2): 96-99.
- [14] 衣永强, 江红. 运用“补中益气汤”治疗痰瘀阻络型消渴病痹症经验[J]. 中医药临床杂志, 2016, 28(8): 1080-1081.
- [15] 刘湘玲, 韩德军, 曹克光, 等. 痛风病常见证候的发展变化规律[J]. 中国中医基础医学杂志, 2018, 24(3): 305-307.
- (收稿日期: 2018-07-26 修回日期: 2018-10-02)
- 
- (上接第 11 页)
- 佐治肿块期浆细胞性乳腺炎 42 例[J]. 安徽中医药大学学报, 2017, 36(5): 33-35.
- [2] 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.
- [3] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2014 年 CHINET 中国细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(5): 401-410.
- [4] 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.
- [5] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2016 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2017, 17(5): 481-491.
- [6] 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.
- [7] 王明贵. 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(1): 82-92.
- [8] 梁华, 彭小宝, 杨军平, 等. 清开灵、双黄连联合头孢哌酮-舒巴坦钠对产 ESBLs 肺炎克雷伯菌抗菌作用研究[J]. 实验与检验医学, 2016, 34(6): 723-727.
- [9] 李娜, 刘楨宇, 陈春林. 双黄连联合抗生素抗菌作用及机制研究进展[J]. 宜春学院学报, 2017, 39(9): 16-19.
- [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] 李亚娜, 陶庆春, 苏建荣. 痰热清联合哌拉西林/他唑巴坦对产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶肺炎克雷伯菌的体外抑制作用[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(5): 631-632.
- [12] 闫春生, 徐海瑛, 陈青阁, 等. 痰热清注射液联合头孢呋辛钠体外抗金黄色葡萄球菌作用[J]. 医药导报, 2016, 35(7): 728-731.
- [13] 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实验研究[J]. 中国中医急症, 2018, 27(2): 296-299.
- [14] 李娅娟, 刘蓬蓬, 李萍, 等. 头孢哌酮/舒巴坦对革兰阴性菌的抗菌活性[J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 16(5): 554-556.
- [15] 王越, 张冬, 王慧敏, 等. 痰热清注射液对铜绿假单胞菌生物被膜形成的影响[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(21): 4841-4843.
- (收稿日期: 2018-07-20 修回日期: 2018-09-26)