

## 黄芩、黄连和黄柏对 CRKP 的抑菌作用研究\*

唐金蓉 李 盛 张曼俐 李凤至 四川省绵阳市中医医院 621000

**摘要** **目的:** 研究黄芩、黄连和黄柏三种中药对耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌(CRKP)的体外抑菌作用。**方法:** 采用微量肉汤稀释法测定黄芩、黄连和黄柏分别对 8 株 CRKP 的最低抑菌浓度(MIC)。再将黄芩、黄连和黄柏两两组合,测定其联合用药的 MIC,并计算部分抑菌浓度指数(FIC)。**结果:** 黄芩对 8 株 CRKP 的 MIC 为 250~1 000mg/ml,黄连对 8 株 CRKP 的 MIC 为 250~1 000mg/ml,黄柏对 8 株 CRKP 的 MIC 均为 >1 000mg/ml。黄芩和黄连对 8 株 CRKP 的 FIC 为 0.25~1.00,表现为协同作用(50.0%)和相加作用(50.0%);黄芩和黄柏对 CRKP 的 FIC 为 0.63~1.50,表现为相加作用(12.5%)和无关作用(87.5%),黄连和黄柏对 CRKP 的 FIC 为 0.53~1.50,表现为相加作用(25.0%)和无关作用(75.0%)。**结论:** 黄芩和黄连对 CRKP 的体外抑菌作用最明显,黄柏未表现出抑菌作用。黄芩和黄连联合对 CRKP 的作用最明显( $P<0.05$ )。

**关键词** 黄芩 黄连 黄柏 CRKP MIC FIC

中图分类号: R285.6 文献标识码: B doi: 10.19381/j.issn.1001-7585.2022.14.054

耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌(Carbapenem-resistant klebsiella pneumoniae, CRKP)的检出近年来呈现出明显的上升趋势,且对多种抗生素均表现出较高的耐药性,其致死率高,预后差,为临床治疗带来巨大压力<sup>[1-3]</sup>。随着对中药抑菌研究的深入,发现中药在抑菌方面有独特优势,甚至对于多重耐药菌也可以发挥一定作用<sup>[4]</sup>。目前对中药联合抗生素对多重耐药菌的抑菌作用研究较多,但中药之间的联合作用研究较少。本研究特选用黄芩、黄连和黄柏这三种中药进行研究,观察单味中药和联合用药对 CRKP 的体外药敏作用,为中药抗多重耐药菌提供更多的思路。

## 1 资料与方法

**1.1 菌株来源** 选取我院检验科微生物室日常培养标本中筛出的致病菌,标本类型为痰液、血液等。共收集 8 株细菌,要求鉴定结果为肺炎克雷伯菌,药敏结果为亚胺培南耐药,并且用纸片法对亚胺培南的药敏结果进行复核,两种方法亚胺培南均为耐药的菌株予以纳入。将菌株分纯后放入含肉汤的无菌密封容器中,置于-70℃冰箱保存。

**1.2 药物来源** 黄芩(批号:21100148)、黄连(批号:20190055)、黄柏(批号:20190042)三种中药颗粒均来自四川新绿色药业科技发展有限公司。

**1.3 仪器与试剂** 鉴定用梅里埃全自动鉴定仪 VITEK2 Compact。所有鉴定试剂来自法国梅里埃,鉴定和药敏用 GN 卡、GN13 卡。亚胺培南药敏纸片来自 Oxoid Limited。质控菌株来自温州康泰,主要为霍氏肠杆菌 ATCC700203、嗜麦芽窄食假单胞菌 ATCC17666 等。MH 肉汤干粉来自杭州滨和。血平板等来自郑州安图生物。96 孔 U 型培养板来自优耐特。

## 1.4 方法

**1.4.1 药液的制备:** 以黄芩为例,将 5g 黄芩颗粒加入 5ml 无菌蒸馏水中,用涡轮混匀器充分混匀溶解,必要时在水浴

箱中孵育使其充分溶解,再用滤纸过滤。配制成 1 000mg/ml 的黄芩药液置于 4℃ 冰箱中备用。

**1.4.2 菌液制备:** 将菌株从冰箱取出解冻后接种于血平板,35℃ 孵育 16~24h 后,取单个菌落转种血平板孵育 16~24h 备用。挑取单个菌落至专用细菌稀释液中,用比浊仪将菌液浓度调至 0.5 麦氏单位(细菌浓度为  $1 \times 10^8$  CFU/ml),然后稀释 100 倍,即得到细菌浓度为  $1 \times 10^6$  CFU/ml 菌液备用。

**1.4.3 测定黄芩、黄柏和黄连分别对 CRKP 的最低抑菌浓度(MIC):** 采用微量肉汤稀释法,用 96 孔细胞培养板进行反应。(1)以黄芩为例,第 1 孔为阳性对照,加入 100μl 经高压灭菌的 MH 肉汤和 100μl 菌液,第 2 孔为阴性对照 100μl MH 肉汤和 100μl 药液,第 3 孔加入 200μl 起始浓度为 1 000μg/ml 的黄芩药液,第 4~12 孔分别加入 100μl MH 肉汤,将第 3 孔的药液加 100μl 到第 4 孔,混匀后再吸取 100μl 到第 5 孔,以此类推进行倍比稀释,使黄芩药液调节为 2~1 000mg/ml 的 10 个浓度梯度。(2)第 3~12 孔分别加入 100μl 之前准备好的菌液,每孔细菌的终末浓度为  $5 \times 10^5$  CFU/ml。(3)35℃ 孵育 16~24h 后观察菌液生长情况,以小孔内完全抑制细菌生长的最低药物浓度为 MIC。(4)由于黄连等药物颜色较深,或是药物沉积不利于观察,则可将该孔中的液体转种至平板 35℃ 孵育 16~24h 再观察是否有细菌生长。

**1.4.4 测定黄芩、黄柏和黄连两两联合对 CRKP 的联合药敏:** (1)采用微量肉汤稀释棋盘法进行药敏实验:以黄芩和黄连为例,将黄芩和黄连分别从 2 倍 MIC 值开始用 MH 肉汤稀释 8 个稀释倍数备用,96 孔板的行和列分别按浓度从大到小加黄芩和黄连药液,每孔 50μl,再每孔加入 100μl 菌液。(2)每行的最后两孔分别作为阴性对照和阳性对照加样。(3)35℃ 孵育 16~24h 后读取结果,无细菌生长的最低药物浓度为 MIC。(4)部分抑菌浓度指数(Fractional inhibitory

\* 基金项目: 四川中医药文化传承与研究中心规划项目(2020Y003); 绵阳市卫健委科研课题补助项目(202110)。通信作者: 唐金蓉

concentration index, FIC) 计算方法:  $FIC = MIC_{\text{甲药(单测)}} / MIC_{\text{甲药(联合)}} + MIC_{\text{乙药(单测)}} / MIC_{\text{乙药(联合)}}$ 。FIC 结果解读:  $FIC \leq 0.5$ , 则表示两种药物之间具有协同作用。 $FIC > 0.5 \sim 1$ , 则表示两种药物之间具有相加作用。 $FIC > 1 \sim 2$ , 表示无关作用。 $FIC > 2$ , 表示存在拮抗作用。

1.5 统计学方法 应用 SPSS21.0 统计软件进行数据分析。计数资料以  $[n(\%)]$  表示, 比较采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 黄芩、黄柏和黄连分别对 8 株 CRKP 的 MIC 值 黄芩对 CRKP 的 MIC 为 250 ~ 1 000 mg/ml, 黄连对 CRKP 的 MIC 为 250 ~ 1 000 mg/ml, 黄柏对 CRKP 的 MIC 均为  $> 1 000$  mg/ml。详见表 1。

2.2 黄芩、黄柏和黄连两两组合对 8 株 CRKP 的 MIC 和 FIC

表 2 黄芩、黄连和黄柏两两联合对 8 株 CRKP 的 MIC 和 FIC

菌株	黄芩 + 黄连			黄芩 + 黄柏			黄芩 + 黄柏		
	MIC (mg/ml)	FIC	作用	MIC (mg/ml)	FIC	作用	MIC (mg/ml)	FIC	作用
1	62.5/62.5	0.25	协同	250.0/250.0	0.63	相加	250.0/62.5	0.53	相加
2	62.5/125.0	0.50	协同	250.0/500.0	1.25	无关	250.0/62.5	0.53	相加
3	62.5/62.5	0.50	协同	250.0/250.0	1.13	无关	250.0/1 000.0	1.50	无关
4	62.5/62.5	0.50	协同	250.0/250.0	1.13	无关	250.0/62.5	1.03	无关
5	500.0/500.0	1.00	相加	1 000.0/1 000.0	1.50	无关	500.0/1 000.0	1.00	无关
6	125.0/250.0	0.63	相加	1 000.0/1 000.0	1.50	无关	500.0/1 000.0	1.50	无关
7	250.0/250.0	1.00	相加	500.0/1 000.0	1.50	无关	500.0/1 000.0	1.50	无关
8	500.0/62.5	0.63	相加	1 000.0/1 000.0	1.50	无关	500.0/250.0	1.13	无关

2.3 黄芩、黄连和黄柏两两联合后的作用统计 黄芩联合黄连表现为协同作用 (50.0%) 和相加作用 (50.0%), 黄芩联合黄柏表现为相加作用 (12.5%) 和无关作用 (87.5%), 黄连联合黄柏表现为相加作用 (25.0%) 和无关作用 (75.0%), 三种组合方式的作用有差异 ( $P = 0.01 < 0.05$ ), 详见表 3。

表 3 黄芩、黄连和黄柏两两联合的作用  $[n(\%)]$

药物组合	黄芩 + 黄连 ( $n = 8$ )	黄芩 + 黄柏 ( $n = 8$ )	黄连 + 黄柏 ( $n = 8$ )
协同	4 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
相加	4 (50.0)	1 (12.5)	2 (25.0)
无关	0 (0.0)	7 (87.5)	6 (75.0)
拮抗	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
$\chi^2$		15.54*	

注: \* 为  $n < 40$  采用 Fisher 的精确检验。

## 3 讨论

目前对于 CRKP 所致感染形式严峻, 治疗主要采用以碳青霉烯类抗生素为基础的联合用药, 但其费用高昂, 毒副作用大, 且药物的可获得性及疗效均不乐观<sup>[5]</sup>。中药在多重耐药菌的防治中也有独特的作用, 筛选出有效的中药对 CRKP 的防治也将发挥重要的作用。本研究发现黄芩、黄连和黄柏三种中药中黄芩、黄连对 CRKP 的效果最好, 其 MIC 范围均为 250 ~ 1 000 mg/ml, 黄柏未表现出抑菌作用, 对 CRKP 的 MIC 均为  $> 1 000$  mg/ml。与赖韶钦等<sup>[6]</sup>、兰小琴等<sup>[7]</sup>的研究结果部分一致。黄芩的主要成分黄芩苷和黄芩素以及黄连的主要成分小檗碱和黄连碱均具有良好的抑菌作用<sup>[8]</sup>, 所以这两味中药对 CRKP 也具有较好的抑制作用。虽然黄芩和黄连效果最好, 但其 MIC 的浓度很高, 这样高的浓度在体内

表 1 黄芩、黄连和黄柏对 8 株 CRKP 的 MIC (mg/ml)

菌株	黄芩	黄连	黄柏
1	500	500	$> 1 000$
2	250	500	$> 1 000$
3	250	250	$> 1 000$
4	250	250	$> 1 000$
5	1 000	1 000	$> 1 000$
6	1 000	500	$> 1 000$
7	500	500	$> 1 000$
8	1 000	500	$> 1 000$

黄芩联合黄连对 CRKP 的 FIC 为 0.25 ~ 1.00, 表现为协同作用和相加作用; 黄芩联合黄柏对 CRKP 的 FIC 为 0.63 ~ 1.50, 表现为相加作用和无关作用, 黄连联合黄柏对 CRKP 的 FIC 为 0.53 ~ 1.50, 表现为相加作用和无关作用。详见表 2。

难以达到, 所以单药抗 CRKP 的效果很难实现。

中药联合方面, 黄芩同黄连联合效果最明显, 具有协同作用 (50.0%) 和相加作用 (50.0%)。黄芩同黄柏以及黄连同黄柏联用主要表现为无关作用。所有的联合药敏未发现拮抗作用。这与程招敏等<sup>[9]</sup>的研究结果完全不同, 可能是由于二者选用的菌株不一样, 本试验选用的是 CRKP, 而前者全部是泛耐药菌株。本结论说明在对 CRKP 的治疗中, 具有黄芩和黄连的方剂可能会具有一定的作用。

综上所述, 黄芩、黄连和黄柏三种中药中, 黄芩、黄连对 CRKP 的效果最好, 且二者联用对 CRKP 具有协同或相加作用。本研究的不足之处在于采用的是中药颗粒, 其成分很多, 可进一步研究中药提取物的药敏实验, 发现起抑菌作用的主要成分。目前对于中药抑菌的研究, 更多地局限在体外药敏试验中, 可能会与体内实际疗效有所差异。

## 参 考 文 献

- [1] China Antimicrobial Resistance Surveillance System, 全国细菌耐药监测网. 全国细菌耐药监测网 2014—2019 年不同等级医院细菌耐药监测报告 [J]. 中国感染控制杂志, 2021, 20(2): 95.
- [2] 孙吉, 何鸽飞, 沈晖, 等. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的药敏结果及耐药基因 [J]. 中国感染控制杂志, 2019, 18(6): 489-494.
- [3] Xu L, Sun X, Ma X. Systematic review and meta-analysis of mortality of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* [J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2017, 16(1): 18.
- [4] 杨文淇, 赵增祥, 徐耀, 等. 中药活性成分抑制多重耐药菌的研究进展 [J]. 中国病原生物学杂志, 2021, 16(6): 734-737.
- [5] 马元吉, 刘真真, 唐光敏. 耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌感染治疗的

- 研究进展[J]. 热带医学杂志 2019 ,19( 11) :1450-1453.
- [6] 赖韶钦,李晓君,谭俊青,等. 黄连等 4 种中药颗粒剂对碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌体外抑菌作用研究[J]. 按摩与康复医学 2019 ,10( 3) :46-47.
- [7] 兰小琴,林楠,杨大超,等. 10 种中药颗粒剂对耐碳青霉烯类肠杆菌体外抑菌作用研究[J]. 中国医药导报 2020 ,17( 13) :169.

- [8] 张雪宁,马方芳,郑艳秋,等. 苦寒类中药抑菌作用及机制的现状与思考展望[J]. 中外医学研究 2020 ,18( 14) :180-182.
- [9] 程招敏,陈泳余,彭方,等. 多种中药对泛耐药肺炎克雷伯菌体外抗菌活性筛选[J]. 蚌埠医学院学报 2020 ,45( 4) :515-518.

收稿日期 2022-01-06

(编辑 倩楠)

## 基于 PCNE 分类系统的门诊儿科用药处方分析

宁苑灵 梁建敏 林娟娟 广西北海市人民医院药剂科 536000

**摘要** **目的:** 了解我院门诊儿科药物使用情况,为促进儿科门诊药物使用的合理化、规范化提供参考。**方法:** 回顾性收集 2021 年 7—8 月我院门诊儿科处方 1 000 份,将符合纳入标准的 827 份儿科处方的用药情况进行点评分析,并基于欧洲医药保健网(PCNE)分类系统对门诊儿科处方中的药物相关问题进行分类汇总。**结果:** 64 份处方发生药物相关问题(DRPs),占 7.74%,共发生 70 次 DRPs。参照 PCNE 分类系统,DRPs 的问题类型分布情况,治疗有效性占 8 次(11.43%),治疗安全性 7 次(10.00%),其他占 55 次(78.57%);DRPs 的原因类型分布情况,主要集中在“药物选择”和“剂量选择”,数量及占比分别为 59(84.29%)、11(15.71%)。急性喘息性支气管炎、急性支气管炎、其他非呼吸道疾病、支气管哮喘及急性扁桃体炎为门诊儿科 DRPs 的高发疾病。**结论:** 通过 PCNE 分类系统分析总结,发现我院门诊儿科的药物使用存在一定的问题,需要药师及时向临床医生反馈儿科处方用药中存在的问题,同时药师也需要实施干预措施,规范化门诊儿科的合理用药。

**关键词** 欧洲医药保健网分类系统 药物相关问题 儿科处方 点评

中图分类号:R969.3 文献标识码:B doi: 10.19381/j.issn.1001-7585.2022.14.055

药物在治疗疾病及改善患者健康方面发挥着重要作用。然而,不恰当的药物使用可能会导致药物相关问题(Drug related problems, DRPs)的发生。DRPs 是指实际存在或潜在的影响患者健康结果的药品治疗事件或情况<sup>[1]</sup>。DRPs 可发生于不同群体以及不同年龄段的患者。尤其是在儿科患者中,DRPs 的发生已经成为一个严峻的问题<sup>[2]</sup>。而大多数 DRPs 与用药处方有关:如药物的选择、剂量和用法用量等<sup>[3]</sup>。DRPs 的发生可能会导致治疗无效,增加患者的随访率和再住院率,从而增加不必要的医疗成本<sup>[4-5]</sup>。因此,为使 DRPs 最小化并以最少成本实现预期治疗的效果,确定 DRPs 并对其进行分类汇总是至关重要的。1999 年 1 月,欧洲药理学监护联盟协会(PCNE)在工作会议期间构建了 DRPs 分类方案,该分类系统可用于研究 DRPs 的性质、流行率和发生率,也可以用于评价药理学监护成果的指标,医务人员可以在药理学监护过程中通过 PCNE 分类系统发现药物相关问题并做成记录。该分类系统会定期进行验证和调整,目前最新版本为 V9.1 版<sup>[6]</sup>。V9.1 版的 PCNE 分类系统能够分类所有的 DRPs,是许多临床药师开展药理学监护的使用工具<sup>[7]</sup>。儿童在就诊过程中比成年人需要得到更多的医疗照顾,门诊儿科患者 DRPs 的发生比较普遍,甚至会导致医源性疾病<sup>[8]</sup>。目前已有基于 PCNE 分类系统研究住院儿科患者的 DRPs,但是基于 PCNE 研究儿科门诊处方的 DRPs 还比较少。本文运用 PCNE 分类系统对门诊儿科处方进行点评,对处方中存在的 DRPs 进行分类汇总,为促进门诊儿科患者合理用药及进一步规范儿科用药提供参考。

### 1 资料与方法

1.1 资料来源 从美康临床药学管理系统中随机抽取 2021 年 7—8 月我院门诊儿科就诊合并用药处方 1 000 张(排除只开外用药物处方),研究对象为 0~16 岁的儿科门诊患者。

1.2 DRPs 点评依据 参考《医院处方点评管理规范(试行)》《处方管理办法》《国家处方集(儿童版)》《英国国家处方集(儿童版)》《中华人民共和国药典:临床用药须知》《新编药理学》药品说明书、相关指南及专家共识、循证级别较高的相关文献、UpToDate 等资料。

1.3 DRPs 分类方法 根据 V9.1 版 PCNE 分类系统对于门诊儿科处方中发现的 DRPs 进行分类,DRPs 分类方案见表 1。

1.4 统计学方法 对处方中发生 DRPs 的临床诊断进行分类统计,某疾病的 DRPs 占比 = 该疾病发生 DRPs 的例数/DRPs 总例数;某疾病 DRPs 发生率 = 该疾病发生 DRPs 的例数/该疾病总例数。用 SPSS13.0 软件进行数据分析,计数资料采用行×列表的  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

### 2 结果

2.1 患者的基本资料 排除了只开外用药物的处方后,最终纳入点评的处方 827 份。平均年龄为  $(3.75 \pm 2.85)$  岁。年龄 1~4 岁的患儿比例最高,共 468 名,占 56.59%。男性患儿 462 名,占 55.86%,60% 患者临床诊断为呼吸系统疾病。

2.2 根据 PCNE 分类系统,对不合理的处方进行统计分析

2.2.1 处方中发生 DRPs 的问题类型具体的分布:827 份门诊儿科处方中,64 份处方发生 DRPs,占 7.74%。共发生 DRPs 70 次,其中 58 份发生 1 次 DRPs,6 份发生 2 次 DRPs。