

# 益胃康颗粒剂对幽门螺杆菌和消化性溃疡的实验研究

向仕平, 朱成全\*, 张玉亮, 肖烈钢

(广州市解放军 421 医院, 广东 广州 510318)

**[摘要]** 目的: 观察中药益胃康颗粒剂在体外培养条件下对幽门螺杆菌(Hp)生长的影响, 以及益胃康颗粒剂存在时 Hp 对几种常用抗生素敏感性的影响。方法: 将 Hp 接种于含不同浓度益胃康颗粒剂的布氏肉汤中培养, 测定益胃康对三种菌株的抑制直径的改变。E 检测法检测益胃康对甲硝唑等抗生素 MIC 的影响。结果: (1) 益胃康颗粒剂可抑制 Hp 的生长, 这种抑制作用与甲硝唑大致相当, 明显优于克拉霉素。(2) 益胃康颗粒剂存在时, 分别使 100%、75% 及 75% 的 Hp 对甲硝唑及克拉霉素的 MIC 降低, 提示益胃康颗粒剂可使 Hp 对上述抗生素的敏感性增高。结论: 益胃康颗粒剂可抑制 Hp 的生长, 提高 Hp 对甲硝唑、克拉霉素及羟氨苄青霉素的敏感性。

**[关键词]** 益胃康颗粒剂; 消化性溃疡; 中医药疗法

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)11-0050-03

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)是慢性胃炎、消化性溃疡、非溃疡性消化不良及胃癌的病因之一, 根除 Hp 不仅能加速溃疡愈合, 而且能显著降低溃疡复发率及胃癌发病率<sup>[1,2]</sup>。

益胃康是我们治疗 Hp 相关性胃炎及消化性溃疡的经验方, 为进一步探讨其治疗 Hp 相关消化疾病的疗效及机理, 我们进行了以下研究。

## 1 材料

**1.1 实验菌株** 国际标准菌株 ss1、637、临床分离菌株(南方医院消化研究所提供); 3 株 Hp 标准菌株(NCTC11637, NCTC 12908 和 Hp26695) 和 63 株临床分离并鉴定的 Hp 菌株(南方医院消化研究所提供)。

**1.2 药品和试剂** 正常脱纤维羊血(南方医院动物中心), 多粘菌素、两性霉素等抗生素(中国腹泻病控制上海试剂供应研究中心); 益胃康颗粒剂(金银花 10g, 乌贼骨 10g, 白芨 10g, 大黄 6g, 白芍 10g, 木瓜 10g, 甘草 6g)(广东一方制药有限公司出品, 产品批号为 020473、020214); 甲硝唑(山西同振药业有限公司), 替硝唑(浙江可立思安制药公司), 青霉素(石家庄第二制药厂), 链霉素(河北制药厂), 羟氨苄青霉素(香港联邦制药公司), 希刻劳(美国礼来公司), 红霉素(大连制药厂), 氯霉素、庆大霉素(浙江新昌制药厂); 甲硝唑、克拉霉素和羟氨苄青霉素 E 检测试

条(AB Biodisk 公司)。

## 2 方法

**2.1 药液制备** 将益胃康制成 5.2g/mL 溶液, 甲硝唑制成 500 $\mu$ g/mL 溶液, 克拉霉素制成 128 $\mu$ g/mL 溶液, 115 $^{\circ}$ C 下灭菌 20min, 存放于 3 个无菌试管中备用。

**2.2 菌株培养** 标准菌株 ss1, 637 经传代稳定后备用。临床菌株取自患者胃窦粘膜组织, 接种于空肠弯曲菌选择性培养基中, 2h 之内置 37 $^{\circ}$ C 含 10% CO<sub>2</sub>、5% O<sub>2</sub>、85% N<sub>2</sub> 的厌氧箱中培养 72h~1 周, 快速尿素酶试验确定为 Hp, 之后每隔三天用接种环划取菌落到新的培养基中进行传代。

**2.3 培养皿的制备** 按 4.3g/100mL 配制空肠弯曲菌琼脂基础培养基, 经 121 $^{\circ}$ C 高压灭菌 15min 后, 冷却至 60 $^{\circ}$ C, 在无菌条件下加 10mg/L 万古霉素, 2.5mg/L 多粘菌素, 2mg/L 两性霉素, 抗菌增效剂 5mg/L, 5%~7% 脱纤维羊血, 混合均匀铺在培养皿上。于纯培养平板上, 选择形态相同的菌落 4~5 个, 接种于 4~5mL 改良布氏肉汤。

**2.4 琼脂扩散实验<sup>[3]</sup> 操作步骤** 用棉拭均匀涂布整个培养基表面, 反复数次, 待稍干, 用镊子取 3 种药敏纸片, 分别平贴于培养基表面, 并用镊尖轻压一下纸片, 使其贴平。每批实验均做 10 份。将贴好纸片的培养皿在 37 $^{\circ}$ C 含 10% CO<sub>2</sub>、5% O<sub>2</sub>、85% N<sub>2</sub> 的厌氧箱中培养三天。用卡尺测量抑菌圈直径并记录。

**2.5 琼脂平皿制备** 以药物梯度平皿筛选得到耐

[收稿日期] 2006-03-16

[通讯作者] \* 朱成全, Tel: (020) 61636364; E-mail: zcqdj@sina.com

甲硝唑 Hp 菌株, 制备含 0.012g/mL 益胃康的血琼脂平皿。

**2.6 最低抑菌浓度(MIC)的测定 E-test 检测法** 挑取数个生长良好无污染的 Hp 菌落放入布氏肉汤中, 调节其浊度为 3 个麦氏单位(10<sup>8</sup> cfu/mL), 用棉签沾取菌液涂布整个 9cmMHA 板, 每株菌涂 9 个板, 放置 15min, 待琼脂表面完全干燥后取 8 个板分别放入甲硝唑、替硝唑、青霉素、链霉素、希刻劳、庆大霉素、红霉素、氯霉素 E-test 试条各一条, 另一板以益胃康作对照。37℃微需氧环境孵育 3d 观察结果。抑菌环和试条交界处的刻度即为 MIC 值。

**2.7 统计学处理** 统计数据经 SPSS10.0 分析, 分析采用  $\chi^2$  检验和 *t* 检验。

### 3 结果

**3.1 益胃康对三株 Hp 抑菌直径的影响** 结果发现益胃康可明显抑制 ss1、637 及临床菌株的直径, 与克拉霉素组比较, 有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 而与甲硝唑组无显著性差异。见表 1。

表 1 益胃康对三株 Hp 抑菌直径记录 mm( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	ss1	637	临床菌株
克拉霉素	9.83 ± 2.41	12.66 ± 3.25	6.05 ± 2.12
甲硝唑	13.33 ± 4.05*	16.54 ± 4.86*	8.33 ± 2.78*
益胃康	12.85 ± 4.07*	16.45 ± 4.34*	8.85 ± 2.62*

\* 与克拉霉素组相比,  $P < 0.05$ 。

**3.2 益胃康对甲硝唑等抗生素 MIC 的影响** D1、D2Hp 耐药菌株对甲硝唑的 MIC 为 1024 $\mu$ g/mL, 加入益胃康后 MIC 为 512 $\mu$ g/mL, 益胃康可降低 Hp 包括敏感菌和耐药菌对表中其他 6 种抗生素的 MIC。甲硝唑耐药菌株对替硝唑也表现出高度耐药, 其 MIC 达 1024 $\mu$ g/mL, 但对其他类抗生素的 MIC 无明显变化。见表 2。

表 2 益胃康对甲硝唑等抗生素 MIC 的影响

菌株	MIC( $\mu$ g/mL)							
	甲硝唑	替硝唑	青霉素	链霉素	希刻劳	庆大霉素	红霉素	氯霉素
D1	1024 (512)	1024 (512)	0.2 (0.1)	1.2 (1.2)	12 (6)	0.48 (0.24)	0.32 (0.15)	16 (8)
D2	> 1024 (> 512)	> 1024 (> 512)	0.2 (0.1)	1.2 (1.2)	12 (6)	0.96 (0.48)	0.30 (0.15)	8 (4)
D3	2.0 (1.0)	1.0 (1.0)	0.2 (0.1)	1.2 (0.6)	24 (12)	0.24 (0.12)	0.6 (0.3)	8 (4)
D4	2.0 (1.0)	2.0 (1.0)	2.0 (1.0)	1.2 (0.3)	12 (6)	0.24 (0.12)	0.30 (0.15)	16 (8)

### 4 讨论

研究表明, Hp 在生长条件不利时, 如营养缺乏、延时培养、代谢产物蓄积、pH 改变及抗生素暴露等条件下, 常转化为休眠状态的球形菌, 一旦生长条件有利时, 再变为有活力的增殖状态。同时 Hp 对甲硝唑等抗生素耐药性的产生, 给控制 Hp 感染带来很大困难。Bell 等<sup>[4]</sup>报道三联治疗甲硝唑敏感菌株的 Hp 根除率为 90%, 而耐药菌株仅为 30%。近年来由于甲硝唑在 Hp 治疗中的广泛应用, Hp 对甲硝唑的耐药性呈迅速上升趋势, Ling 等<sup>[5]</sup>报道 1991 年 Hp 对甲硝唑的耐药率为 22%, 而 1995 年则达到 73.2%。因此寻找高效、低毒的抗幽门螺杆菌的药物成为必要。

本研究发现, 益胃康可明显抑制 ss1、637 及临床菌株的直径, 与克拉霉素组比较有显著性差异, 而与甲硝唑组类似。益胃康可增加 Hp 对甲硝唑、克拉霉素及羟氨苄青霉素的敏感性, 这种作用的机制尚有待进一步研究, 但至少这种作用与益胃康所致的培养基 pH 改变无关。这首先是由于加入 0.012g/L 益胃康对培养基 pH 的改变极小, 不影响 Hp 的生长; 其次, 克拉霉素和羟氨苄青霉素的杀菌活性依赖于中性条件下细菌的旺盛生长及高表达, 而酸性环境所致的细菌生长不良及不分裂状态将增加其对抗生素的耐药性。

中医认为, 消化性溃疡多因饮食不节, 七情内伤, 导致脾胃受损, 肝脾不和, 气滞血瘀。而 Hp 为湿热郁毒, 属“邪气”范畴, 其致病与脾虚即免疫功能的强弱有关。故选用健脾益气、清热解毒, 且对 Hp 敏感的中药组方, 在促进溃疡愈合的同时, 根除 Hp, 防止溃疡的复发。本方中白芍、木瓜、甘草柔肝健脾, 缓急止痛, 现代医学认为甘草还具有保护胃粘膜屏障作用, 乌贼骨能增加正常和应激大鼠胃组织 cAMP 的含量, 说明该药能有效地减轻应激性胃粘膜损伤的形成和促进溃疡的愈合, 以减少胃酸对溃疡创面的侵蚀与刺激, 从而缓解疼痛保护胃粘膜, 配白芨活血化瘀, 敛疮生肌<sup>[6]</sup>。而大黄、金银花有清热解毒、祛瘀燥湿之功, 可消除局部水肿, 对 Hp 有一定程度的抑制或杀灭作用<sup>[7]</sup>。综合该方具有清热解毒、缓急止痛、敛疮生肌、祛瘀醒脾及抑杀 Hp 作用。通过增强胃粘膜的保护作用, 改善胃粘膜的血液循环, 防止致病因子对胃粘膜的损害, 而达到促进溃疡愈合及抑杀 Hp 的目的。该方在对消化性溃疡的治愈率、

Hp 的根除率方面疗效较好, 优于对照组, 没有明显的副作用, 提高 Hp 对甲硝唑、克拉霉素及羟氨苄青霉素的敏感性。提示该方对治疗消化性溃疡及根除 Hp 确有显著疗效, 值得进一步研究。

### [ 参考文献 ]

- [ 1 ] Sato R, Fujioka T, Murakami K, *et al.* Helicobacter pylori eradication therapy for extragastric diseases [ J ]. Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi. 2003, 100( 11 ) : 1295-1301.
- [ 2 ] Guttner Y, Windsor HM, Viiala CH, *et al.* Nitazoxanide in Treatment of Helicobacter pylori: a Clinical and In Vitro Study [ J ]. Antimicrob Agents Chemother. 2003, 47( 12 ) : 3780-3783.

- [ 3 ] 叶应妩, 王毓三. 全国临检操作规程 [ S ]. 北京: 中华人民共和国卫生部医政司, 1997. 472-530.
- [ 4 ] Bell GD, Powell KU. Helicobacter pylori reinfection after apparent eradication—the Ipswich experience [ J ]. Scand J Gastroenterol Suppl. 1996, 215: 96-104.
- [ 5 ] Ling KL, Luman W, Ho B, *et al.* Efficacy of a nitroimidazole containing tripletherapy regime in Singapore [ J ]. Singapore Med J. 2001, 42( 7 ) : 317-321.
- [ 6 ] 王绪霖, 缴稳玲, 吕宗舜, 等. 抑制幽门螺杆菌中药的初步筛选 [ J ]. 中国中西医结合杂志, 1994, 14( 9 ) : 534-536.
- [ 7 ] 徐州, 周德端, 段国勋, 等. 中药对幽门螺杆菌抑杀使用的实验研究 [ J ]. 中国医药学报, 1993, 8( 5 ) : 25-26.