

# 生姜泻心汤对感染难辨梭菌小鼠的治疗作用研究<sup>△</sup>

马致洁<sup>1\*</sup>, 吕 治<sup>2</sup>, 于小红<sup>1</sup>, 章从恩<sup>1</sup>, 陈 熹<sup>1</sup>(1. 首都医科大学附属北京友谊医院药学部, 北京 100050; 2. 首都医科大学附属北京友谊医院检验科, 北京 100050)

中图分类号 R96;R932 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2021)11-1281-06

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2021.11.001

**摘要** 目的:探讨生姜泻心汤对感染难辨梭菌小鼠的治疗作用。方法:采用 C57BL/6 小鼠难辨梭菌感染模型,将小鼠分为正常组、模型组、万古霉素组(50 mg/kg)和万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组(万古霉素 50 mg/kg+生姜泻心汤 16.4 g/kg),以及生姜泻心汤低剂量组(16.4 g/kg)、高剂量组(32.8 g/kg),所有小鼠连续给药 7 d。通过体重、艰难梭菌毒素 A&B 水平和肠组织病理苏木精-伊红染色情况等评价生姜泻心汤治疗难辨梭菌感染的疗效。结果:造模前至造模成功时,各组小鼠体重稳步升高;造模成功后至治疗中期,小鼠体重持续降低,其中模型组降低最明显;治疗期,除生姜泻心汤高剂量组小鼠在治疗第 5 日的体重低于模型组,其他监测时间点,模型组小鼠体重显著低于万古霉素组、万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组和生姜泻心汤低剂量组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );观察期,各组小鼠体重仍持续升高。万古霉素组、万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组小鼠的难辨梭菌毒素 A&B 水平得到有效降低,与模型组相比,差异有统计学意义( $P<0.01/0.05$ );停药观察第 5 日,难辨梭菌毒素 A&B 水平较观察第 2 日升高,与模型组的差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。生姜泻心汤低剂量组小鼠治疗 3 d 后的艰难梭菌毒素 A&B 水平降至正常水平,与模型组相比,差异有统计学意义( $P<0.01/0.05$ ),且该水平维持至停药观察 5 d。肠组织病理苏木精-伊红染色结果显示,治疗后,除生姜泻心汤高剂量组小鼠肠组织局部黏膜下层可见少量淋巴细胞浸润外,其他各组均未见肠组织有明显损伤。结论:生姜泻心汤单独使用的抑菌能力虽不及万古霉素,但仍表现出了一定的治疗作用;与万古霉素单独使用相比,生姜泻心汤低剂量联合万古霉素对毒素水平的抑制能力较稳定。生姜泻心汤的治疗作用稳定,起效较慢,且无复发迹象,体现了中药多成分、多靶点的作用特点和优势,为临床难辨梭菌感染提供了一种新的治疗策略参考。

**关键词** 生姜泻心汤;艰难梭菌感染;C57BL/6 小鼠

## Therapeutic Effects of Shengjiang Xiexin Decoction on Mice Infected with *Clostridium Difficile*<sup>△</sup>

MA Zhijie<sup>1</sup>, LYU Zhi<sup>2</sup>, YU Xiaohong<sup>1</sup>, ZHANG Congen<sup>1</sup>, CHEN Xi<sup>1</sup>(1. Dept. of Pharmacy, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China; 2. Dept. of Clinical Laboratory, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To probe into the therapeutic effect of Shengjiang Xiexin decoction on mice infected with *Clostridium difficile* (*C. difficile*). **METHODS:** The C57BL/6 mice infected with *C. difficile* were divided into the normal group, model group, vancomycin group (50 mg/kg), vancomycin combined with Shengjiang Xiexin decoction low-dose group (vancomycin 50 mg/kg + Shengjiang Xiexin decoction 16.4 g/kg), and Shengjiang Xiexin decoction low-dose group (16.4 g/kg) and high-dose group (32.8 g/kg). All mice were dosed continuously for 7 d. The efficacy of Shengjiang Xiexin decoction in the treatment of *C. difficile* infection was evaluated based on the mortality, body weight, A&B level of *C. difficile*, and HE staining of intestinal histology. **RESULTS:** The body weight of mice in each group increased steadily from before modeling to the time of successful modeling; after successful modeling to the middle of treatment, the body weight of mice continued to decrease, with the most obvious decrease in the model group. During the treatment, the body weight of mice in the model group was significantly lower than that in the vancomycin group, the vancomycin combined with Shengjiang Xiexin decoction low-dose group, and the Shengjiang Xiexin decoction low-dose group at other monitoring time points, with statistically significant difference ( $P<0.05$ ), except for the body weight of mice in the Shengjiang Xiexin decoction high-dose group was lower than that in the model group on the 5th day of treatment. During the observation period, the body weight of mice in each group continued to increase.

<sup>△</sup> 基金项目:国家自然科学基金项目(No. 82004038);中国博士后基金面上项目(No. 2018M631704);中华中医药学会青年人才托举工程项目(No. QNRC2-C13)

\* 副主任药师,博士。研究方向:中药药理学。E-mail:13811647091@163.com

Compared with the model group, the A&B level of *C. difficile* decreased effectively in the vancomycin group and the vancomycin combined with Shengjiang Xiexin decoction low-dose treatment group ( $P < 0.01/0.05$ ). On the 5th day of drug withdrawal, the A&B level of *C. difficile* increased compared with the 2nd day of observation in the vancomycin group and the vancomycin combined with Shengjiang Xiexin decoction low-dose treatment group, and there was no statistical significance compared with the model group ( $P > 0.05$ ). After 3 d of treatment, the A&B level of *C. difficile* in the Shengjiang Xiexin decoction low-dose group decreased to the normal level, and the difference was statistically significant compared with that in the model group ( $P < 0.01/0.05$ ), and the level was maintained until the drug withdrawal for 5 d. HE staining results of intestinal tissue pathology showed that after treatment, no obvious intestinal tissue damage was observed in other groups except for a small amount of lymphocyte infiltration in the local submucosa of the mice in the Shengjiang Xiexin decoction high-dose group. CONCLUSIONS: Although Shengjiang Xiexin decoction alone is not as strong as vancomycin in antibacterial activity, it still shows a certain therapeutic effect; compared with vancomycin alone, the inhibition ability on toxin level in Shengjiang Xiexin decoction high-dose group combined with vancomycin group is relatively stable. Shengjiang Xiexin decoction has the stable therapeutic effect, slow onset and no signs of recurrence, which reflects the characteristics and advantages of multi-component and multi-targeted traditional Chinese medicine, and provides the new treatment strategy reference for clinical *C. difficile* infection.

**KEYWORDS** Shengjiang xiexin decoction; *Clostridium difficile* infection; C57BL/6 mice

艰难梭菌感染 (*Clostridium difficile* infection, CDI) 是由于抗菌药物使用时破坏了肠道菌群,使肠道菌群的“定植耐受”能力下降,艰难梭菌在肠道中大量繁殖产生毒素 A&B,引起伪膜性结肠炎,甚至中毒性巨结肠及全身中毒反应的疾病,形势严峻<sup>[1]</sup>。治疗 CDI 的首选方案为万古霉素或甲硝唑<sup>[2]</sup>。但近年来的临床应用中发现,万古霉素及甲硝唑治疗方案仅能杀死菌体而难以清除芽孢,其治疗后的复发率可高达 20%~30%,导致大量患者最终发生复发性 CDI<sup>[3-4]</sup>。单独使用抗菌药物治疗艰难梭菌相关性腹泻 (*Clostridium difficile* associated diarrhea, CDAD) 的难度越来越大<sup>[5]</sup>。研究人员一直在积极地寻找替代药物或治疗方案<sup>[6]</sup>。

中医药治疗细菌感染从细菌与患者 2 个方面出发,强调患者自身正气的强弱与疾病的关系,认为“正气存内则邪不可干”,内因是根本。中医证候是根据患者本身及病邪 2 个方面辨证而来。中药复方的抗菌作用也不是单一的抑制或杀灭细菌,而是抗菌、免疫调节和消除细菌耐药性等途径的多方位组合作用。中医药从机体出发,在抗感染的同时,保持菌群状态和人体内环境的动态平衡,维护器官正常生理功能。中药复方生姜泻心汤由生姜 12 g、炙甘草 9 g、人参 9 g、干姜 3 g、黄芩 9 g、清半夏 9 g、黄连 3 g 和大枣 9 g 组成,出自《伤寒论》。方中黄芩、黄连苦寒降泄;半夏、干姜配黄芩、黄连,寒热并用;人参、甘草和大枣相配,意在甘温补益脾胃之气<sup>[7]</sup>。研究结果证实,生姜泻心汤能有效预防伊立替康所致迟发性腹泻<sup>[8]</sup>。生姜泻心汤减轻了燥热之性,又有化散水气之功,止泻的同时又不致便秘,是预防和辅助治疗 CDI 的可行药物,课题组前期借助网络药理学、计算机化学技术方法,同时查阅中医经典古籍,结合临床专家的实践经验,筛选出生姜泻心汤作为治疗难辨梭菌感染的候选方剂<sup>[9]</sup>。本研究在前期课题组已建立的 C57BL/6 小鼠难辨梭菌感染模型上<sup>[10]</sup>,评价生姜泻心汤对难辨梭菌感染的治疗作用,为深入研究、开发用于治疗难辨梭菌感染的药物奠定基础。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

C57BL/6 小鼠,雄性,黑色,5~6 周龄,符合无特定病原体 (SPF) 动物标准。小鼠购自华阜生物科技股份有限公司,许可证号为 11401300053920。小鼠在开始实验前先在常规条件下饲养 1 周。

### 1.2 仪器

BD BACTEC FX 型全自动培养系统(美国 BD 公司);艰难梭菌 A&B 毒素检测设备:VIDAS 免疫分析系统(法国生物梅里埃公司)。

### 1.3 药品与试剂

(1) 抗菌药物:万古霉素分析标准品,卡那霉素分析标准品,庆大霉素分析标准品,多黏菌素 E 分析标准品,甲硝唑分析标准品,均购自美国 Sigma-Aldrich 公司;克林霉素分析标准品,购自中国药品生物制品检定院。(2) 生姜泻心汤处方药材:生姜(批次:18100803),半夏(批次:18040501),干姜(批次:18061102),黄连(批次:17072303),黄芩(批次:18050801),人参(批次:17081204),大枣(批次:18091401),炙甘草(批次:18101202),均购自天津盛实百草药业有限公司。(3) 艰难梭菌 ATCC43255-VPI10463 购自北京中原公司代理美国标准生物品收藏中心(ATCC);艰难梭菌 A&B 毒素检测试剂盒(法国生物梅里埃公司,批号:1005021200) 粪便细菌基因组 DNA 提取试剂盒(QIamp DNA StoolMini Kit),购自 QIAGEN 中国(上海)有限公司。

## 2 方法

### 2.1 动物造模

将 C57BL/6 小鼠随机分组,除正常组外,对其他组小鼠进行造模。取抗菌药物混合液(万古霉素 0.022 5 mg/ml,甲硝唑 0.107 5 mg/ml,黏菌素 425 U/ml,庆大霉素 0.017 5 mg/ml) 代替饮水 3 d;3 d 后,更换正常饮水,持续 2 d 后,腹腔注射克林霉素(10 mg/kg);次日灌胃给予难辨梭菌  $10^5$  CFU/只,每只

小鼠 200  $\mu$ l;给菌后随时观察记录小鼠状态,包括活动情况、粪便形状和死亡情况等;24 d 后,取粪便检测 A&B 毒素,综合评价模型复制情况。

## 2.2 分组与给药

取 C57BL/6 小鼠 54 只,随机分为 6 组,每组 9 只,分别为正常组、模型组(难辨梭菌感染模型)、万古霉素组(50 mg/kg)和万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组[万古霉素 50 mg/kg+生姜泻心汤 16.4 g 生药/kg],以及生姜泻心汤低剂量组[16.4 g (生药)/kg]、高剂量组[32.8 g(生药)/kg]。模型组小鼠每日给予相同体积的 0.9%氯化钠溶液。生姜泻心汤低剂量组小鼠的给药剂量相当于人等效剂量的 2 倍。所有小鼠于每日上午 9 时以灌胃方式给药,连续给药 7 d。

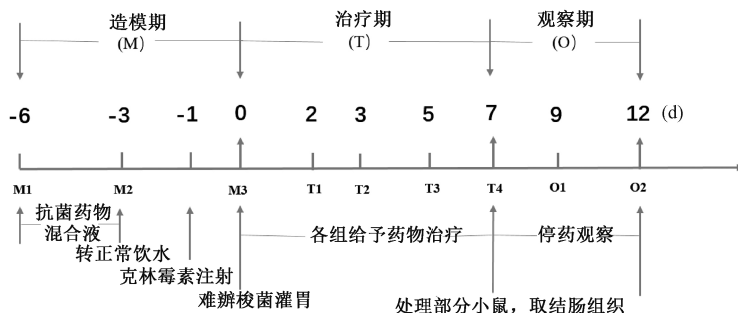


图 1 实验流程示意图  
Fig 1 Experimental flow chart

## 2.5 统计学方法

采用 SPSS 23.0 软件对数据进行统计学分析,采用单因素方差分析(ANOVA)与事后检验,结果采用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,当  $P<0.05$  时,差异被认为有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 体重变化情况

分别于造模期(M)、治疗期(T)和观察期(O)检测小鼠体重变化情况,见图 2。造模前至造模成功时,各组小鼠体重稳步升高,组间差异无统计学意义( $P>0.05$ );造模成功后(M3)至治疗中期(T2),小鼠体重持续降低,其中模型组降低最明显;治疗期(T),除生姜泻心汤高剂量组小鼠在治疗第 5 日(T3)的体重低于模型组外,其他监测时间点(T1, T3, T4),模型组小鼠体重显著低于万古霉素组、万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组和生姜泻心汤低剂量组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );观察期(O),各组小鼠体重仍持续升高,但各组体重的差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

### 3.2 A&B 毒素检测结果

难辨梭菌毒素 A&B 是该细菌的主要致病物质,小鼠粪便标本中 A&B 毒素水平可有效反映肠道中致病菌繁殖的数量和发展情况。实验中分别于造模期(M)、治疗期(T)和观察期(O)的不同时间点检测了正常组、模型组及各治疗组小鼠粪便中 A&B 毒素的变化情况,观察造模过程 A&B 毒素的变化情况。

3.2.1 造模期(M)小鼠 A&B 毒素的水平:在小鼠造模前期(M1、M2),正常组和模型组小鼠难辨梭菌 A&B 毒素检测结果均为阴性( $<0.13$ ),且差异无统计学意义( $P>0.05$ );造模最后 1 日给予难辨梭菌灌胃后(M3),模型组小鼠粪便中 A&B 毒素

## 2.3 生姜泻心汤供试品制备

生姜泻心汤的处方为:半夏 9 g,干姜 3 g,黄连 3 g,黄芩 9 g,人参 9 g,大枣 9 g(擘),炙甘草 9 g,生姜 12 g;制备方法为:半夏加沸水清洗数遍后与其他药材合并煎煮,药液过滤浓缩至一定体积即得。

## 2.4 检测指标

整个实验流程分 3 个阶段,即造模期(M)、治疗期(T)和观察期(O),见图 1。在不同时期的不同时间点称量小鼠体重,收集小鼠大便检测难辨梭菌毒素 A&B(参照试剂盒操作说明),同时观察小鼠行为状态、粪便形状,治疗结束后每组随机选 3 只小鼠,取结肠组织染色,其余小鼠继续观察一般情况,并称量体重,收集大便检测难辨梭菌毒素 A&B。

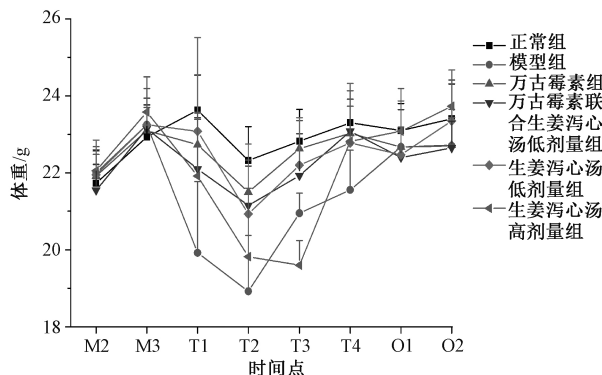
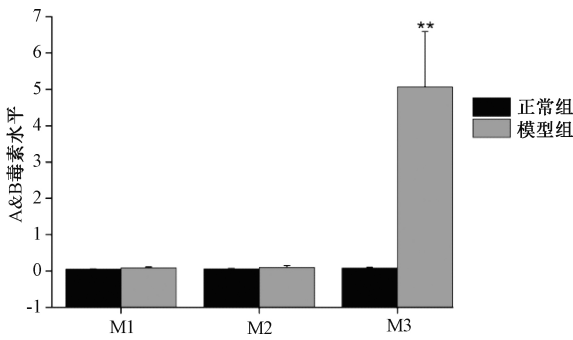


图 2 六组小鼠不同时间点体重变化情况  
Fig 2 Body weight changes of mice among six groups at different time points

水平显著高于正常组,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),说明该时间点造模成功,见图 3。

3.2.2 治疗期各组小鼠 A&B 毒素的水平:六组小鼠治疗期(T)A&B 毒素水平比较见图 4。造模成功后的治疗期(T),各组小鼠的 A&B 毒素水平变化较明显。模型组小鼠在治疗期(T1、T2、T3 和 T4)A&B 毒素水平均为阳性( $>0.37$ ),在造模成功后治疗的第 1 日(T1)达到高峰(5.34 $\pm$ 1.48),随后开始降低,在治疗第 5 日(T3)降低至 1.55 $\pm$ 1.33,但仍处于阳性区,并未降至正常水平,说明模型成功,且相对较稳定。万古霉素及万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组小鼠在治疗期间(T1、T2、T3 和 T4)A&B 毒素水平显著降低( $P<0.01/0.05$ ),均处于阴性区( $<0.13$ ),说明万古霉素及其联合生姜泻心汤均表现出了

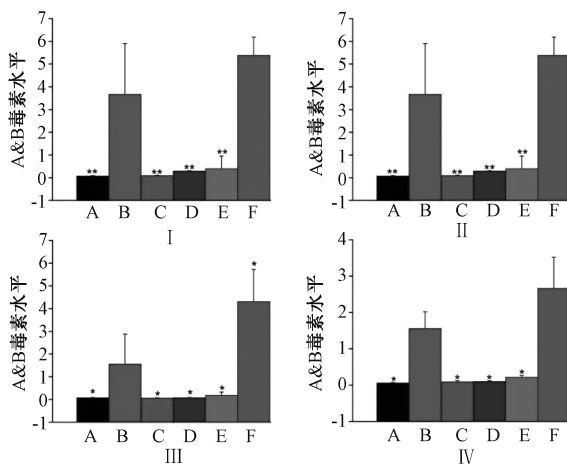


与正常组相比, \*\*  $P < 0.01$

vs. the normal group, \*\*  $P < 0.01$

图3 造模期间空白组和模型组小鼠粪便中A&B毒素水平变化情况

Fig 3 Changes of A&B level of *C. difficile* in feces of mice from the blank group and the model group during modeling period



I. T1; II. T2; III. T3; IV. T4; A. 正常组; B. 模型组; C. 万古霉素组; D. 万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组; E. 生姜泻心汤低剂量组; F. 生姜泻心汤高剂量组; 与模型组相比, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

I. T1; II. T2; III. T3; IV. T4; A. normal group; B. model group; C. vancomycin group; D. vancomycin combined with Shengjiang Xiexin decoction low-dose group; E. Shengjiang Xiexin decoction low-dose group; F. Shengjiang Xiexin decoction high-dose group; vs. the model group, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

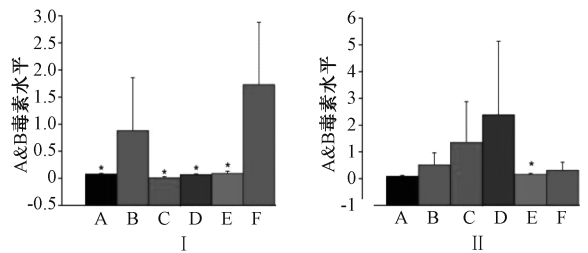
图4 六组小鼠治疗期(T)A&B毒素水平比较

Fig 4 Comparison of A&B level of *C. difficile* among six groups during treatment (T)

较好的抑菌作用。生姜泻心汤低剂量组小鼠在治疗期间A&B毒素水平相对于模型组显著降低,但治疗前期(T1、T2)仍处于阳性区( $>0.37$ ),直至治疗第5日(T3)降低至灰区( $0.13 \sim 0.37$ ),说明生姜泻心汤低剂量也具有一定的抑制艰难梭菌作用,但其起效不及万古霉素快,且作用强度较万古霉素弱。生姜泻心汤高剂量组在治疗过程中A&B毒素水平与模型组相比未显示出差异性,甚至在治疗后期其毒素水平高于模型组,治疗期间未显示出明显的作用。

3.2.3 观察期各组小鼠A&B毒素水平:给药7d后,每组取3只小鼠,处理后取结肠组织。后期仍对实验中各组剩余6只

小鼠的状态、死亡率和生存期进行观察,同时定期收集小鼠粪便进行A&B毒素的检测。六组小鼠观察期(O)A&B毒素水平比较见图5。从观察期(O1、O2)A&B毒素水平的检测结果看,观察第2日(O1)万古霉素组、万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组和生姜泻心汤低剂量组与模型组的差异仍有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明停药前2d,各组的的治疗作用相对比较稳定。观察第3日,发现万古霉素组2只小鼠状态不佳,且其中1只于当日死亡,另1只于观察第4日死亡;万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组小鼠粪便较稀,小鼠整体状态欠佳,其他各组小鼠状态无明显变化。说明随着停药时间的延长,万古霉素及万古霉素联合生姜泻心汤的治疗作用逐渐减弱,甚至可能出现了复发情况。于观察第5日(O2)检测各组存活小鼠A&B毒素水平,发现万古霉素组、万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组毒素水平明显升高,与模型组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),其治疗作用基本消失;生姜泻心汤低剂量组小鼠A&B毒素水平与模型组相比,差异仍有统计学意义( $P < 0.05$ ),仍维持一定的治疗作用。



I. O1; II. O2; A. 正常组; B. 模型组; C. 万古霉素组; D. 万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组; E. 生姜泻心汤低剂量组; F. 生姜泻心汤高剂量组; 与模型组相比, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

I. O1; II. O2; A. normal group; B. model group; C. vancomycin group; D. vancomycin combined with Shengjiang Xiexin decoction low-dose group; E. Shengjiang Xiexin decoction low-dose group; F. Shengjiang Xiexin decoction high-dose group; vs. the model group, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

图5 六组小鼠观察期(O)A&B毒素水平比较

Fig 5 Comparison of A&B level of *C. difficile* among six groups during observation (O)

3.2.4 实验过程中各组小鼠A&B毒素水平的变化趋势:六组小鼠实验过程中A&B毒素的变化趋势见图6。给予难辨梭菌造模后(M3),除正常组,其他各组小鼠A&B毒素水平显著升

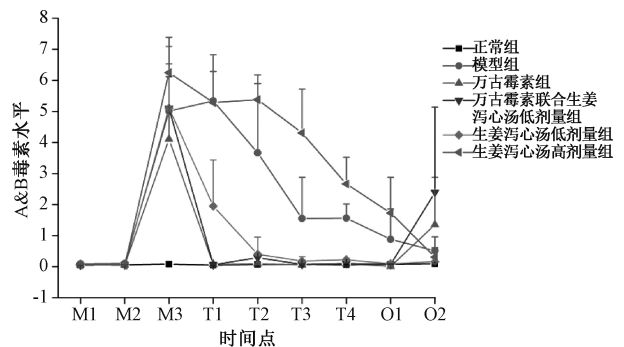


图6 六组小鼠实验过程中A&B毒素的变化趋势

Fig 6 Changing trend of A&B level of *C. difficile* in mice of different groups during experiment

高,表明模型成功。治疗期(T)及观察期(O),模型组小鼠A&B毒素水平持续呈降低趋势,说明模型组小鼠可能由于自身免疫的作用,难辨梭菌感染逐渐恢复。万古霉素组和万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组小鼠在治疗期(T1、T2、T3和T4)A&B毒素水平较稳定,表现了较强的治疗作用,但观察期(O2)A&B毒素水平开始升高,可能是小鼠服用万古霉素治疗后产生了复发迹象。生姜泻心汤低剂量组小鼠在治疗期至观察期持续呈降低趋势,无复发迹象,表现了较稳定的治疗作用。生姜泻心汤高剂量组小鼠在治疗期至观察期A&B毒素一直处于较高水平,未表现出治疗作用。

3.2.5 结肠组织病理染色结果:治疗结束后,剖取组织,常规取材,脱水,包埋,制片,苏木精-伊红染色后,在光学显微镜下观察并描述不同种类的病变部位,结果见图7。从肠组织病理染色结果看,正常组小鼠肠组织黏膜层肠上皮结构完整,上皮细胞形态结构正常、排列紧密,固有层肠腺丰富,可见较多杯状细胞,未见明显炎症。模型组小鼠肠组织黏膜层局部可见少量上皮细胞脱落[如图7(B)中黑色箭头所示],周围固有层中可见肠腺数量减少。万古霉素组小鼠黏膜层肠上皮结构完整,上皮细胞形态结构正常、排列紧密,固有层肠腺丰富,可见较多杯状细胞,未见明显炎症。万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组小鼠黏膜层肠上皮结构完整,上皮细胞形态结构正常、排列紧密,固有层肠腺

丰富,可见较多杯状细胞,未见明显炎症。生姜泻心汤低剂量组小鼠黏膜层肠上皮结构完整,上皮细胞形态结构正常、排列紧密,固有层肠腺丰富,可见较多杯状细胞,未见明显炎症。生姜泻心汤高剂量组小鼠黏膜层肠上皮结构完整,上皮细胞形态结构正常、排列紧密,固有层肠腺丰富,可见较多杯状细胞;局部黏膜下层可见少量淋巴细胞浸润[如图7(F)中黑色箭头所示]。

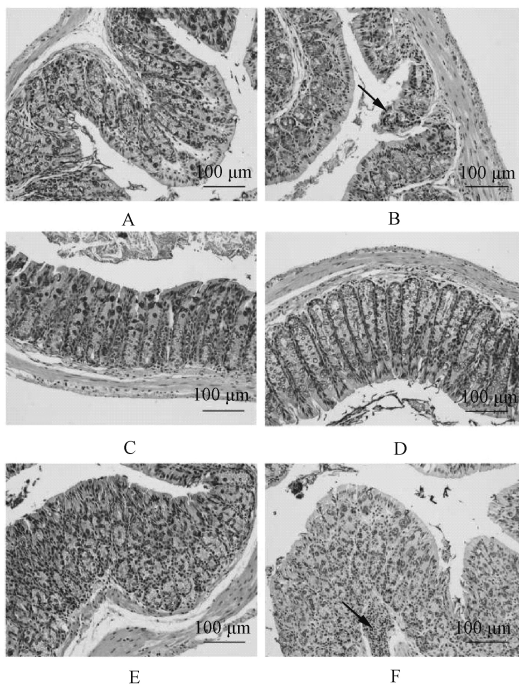
#### 4 结论

随着广谱抗菌药物的广泛使用,在全球范围内,抗菌药物相关性腹泻尤其是CDI引起的CDAD的发病率逐渐升高<sup>[11]</sup>。CDAD是由艰难梭菌异常过度增殖、释放毒素引起的,以腹泻为主的感染性疾病<sup>[12]</sup>。艰难梭菌易耐药<sup>[13]</sup>、芽孢外界存活时间长<sup>[14]</sup>和传播性强的特点,导致了其在医院内和护理机构中的暴发流行,威胁公共卫生安全,引起了医学界的密切关注与重视<sup>[15]</sup>。

传统抗菌药物治疗CDI性腹泻的难度越来越大<sup>[5]</sup>,需要寻求更加安全、有效的替代治疗药物及方案,传统中医药逐渐受到重视。黄连主要成分小檗碱的药效尤为突出<sup>[16]</sup>。实验结果显示,小檗碱可抑制艰难梭菌生长,明显改善肠道菌群<sup>[17-18]</sup>;临床研究结果显示,小檗碱可有效抑制CDAD,其单独使用的治疗有效率可达84%<sup>[19]</sup>。课题组前期基于专家临床经验对CDAD进行有效中药方剂的筛选与评价,发现经典方剂生姜泻心汤治疗CDAD具有较大潜力。

本研究模拟人类感染难辨梭菌的过程,在C57BL/6小鼠上复制了难辨梭菌感染的动物模型,并用该模型评价了生姜泻心汤及生姜泻心汤辅助万古霉素治疗难辨梭菌的疗效。结果发现:(1)从艰难梭菌A&B毒素水平看,难辨梭菌感染C57BL/6小鼠模型基本复制成功,可用于药物作用的评价。(2)从治疗期A&B毒素水平看,万古霉素抑制难辨梭菌分泌毒素的作用非常显著;万古霉素联合生姜泻心汤低剂量抑制难辨梭菌分泌毒素的作用很强,与万古霉素相当;生姜泻心汤低剂量有抑制难辨梭菌分泌毒性的作用,但不及万古霉素;生姜泻心汤高剂量不仅无抑制难辨梭菌分泌A&B毒素的作用,反而有促进其分泌的趋势。(3)从观察期A&B毒素水平看,观察前期万古霉素组及万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组毒素水平有升高趋势,观察至第5日,与模型组的差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),可能存在小鼠服用万古霉素复发的现象,但从A&B毒素水平上看,万古霉素组和万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组的差异并无统计学意义( $P > 0.05$ ),其治疗作用有减弱的趋势;生姜泻心汤低剂量组毒素水平较稳定,与模型组比较,差异仍有统计学意义( $P < 0.05$ ),仍表现出一定的治疗作用。(4)从各组在整个实验过程中A&B毒素水平的变化趋势看,模型组小鼠在造模成功后,本身有恢复的趋势,说明模型组小鼠可能由于自身免疫的作用,难辨梭菌感染逐渐恢复,也可能在造模时难辨梭菌注射量偏低,导致感染较轻所致;万古霉素组和万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组在造模期和观察期毒素水平较稳定,一直处于阴性区,但观察期开始升高,可能是小鼠服用万古霉素引起部分复发造成的;而生姜泻心汤低剂量组在治疗期至观察期一直呈降低趋势,无复发的迹象。

本研究结果说明,生姜泻心汤单独使用的抑菌能力虽不及  
(下转第1290页)



A. 正常组;B. 模型组;C. 万古霉素组;D. 万古霉素联合生姜泻心汤低剂量组;E. 生姜泻心汤低剂量组;F. 生姜泻心汤高剂量组

A. Normal group; B. model group; C. vancomycin group; D. vancomycin combined with Shengjiang Xiexin decoction low-dose group; E. Shengjiang Xiexin decoction low-dose group; F. Shengjiang Xiexin decoction high-dose group

图7 治疗结束后肠组织苏木精-伊红染色结果( $\times 200$ )

Fig 7 HE staining results of intestinal tissue after treatment ( $\times 200$ )