

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.17.006

感甦合剂解热固本、抑菌抗病毒作用及其机制研究*

程媛,唐裕,唐熠,李涓,谭亿民,盛蓉[△]

(成都中医药大学附属医院,四川 成都 610072)

摘要:目的 探讨感甦合剂的解热、增强免疫及抑菌、抗病毒作用及其机制。方法 以家兔耳缘静脉注射内毒素致其发热为动物模型,观察感甦合剂的解热作用;通过小鼠体内碳粒廓清吞噬实验,观察感甦合剂增强免疫的作用;通过体外抗菌实验与抗病毒实验,观察感甦合剂抑菌和抗病毒作用。结果 感甦合剂可抑制家兔体温升高及增强小鼠网状内皮细胞的吞噬功能;感甦合剂对常见革兰阳性菌及革兰阴性菌抑菌作用由强到弱依次为肺炎链球菌、乙型溶血性链球菌、金黄色葡萄球菌、甲型溶血性链球菌、肺炎克雷伯菌;体外抗病毒实验表明,感甦合剂有微弱的抗呼吸道合胞病毒的作用。结论 感甦合剂有明显的解热和增强非特异性免疫功能的作用,其解热固本的作用可能与其对常见上呼吸道感染细菌和病毒的抑制作用相关。

关键词:感甦合剂;解热;增强免疫;抑菌;抗病毒

中图分类号:R932;R285.5;R254

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)17-0021-04

Antipyretic, Antibacterial and Antiviral Effects of Gansu Mixture and Its Mechanism

CHENG Yuan, TANG Yu, TANG Yi, LI Juan, TAN Yimin, SHENG Rong

(Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan, China 610072)

Abstract: Objective To investigate the antipyretic, immune enhancing function, antibacterial and antiviral effects Gansu Mixture and its mechanism. **Methods** The endotoxin induced fever rabbit model was used to observe the antipyretic effects of Gansu Mixture. Carbon clearance experiment in mice injected of ink was used to observe the immune enhancing function, and the *in vitro* antibacterial test and antiviral test were used to detect the antibacterial and antiviral effect of Gansu Mixture. **Results** Gansu Mixture could significantly inhibit the rise of rabbits' temperature induced by endotoxin and increase carbon clearance by the reticuloendothelial cells. Gansu Mixture also exhibited antibacterial effect on common Gram-positive and Gram-negative bacteria. The order from strong to weak was *Streptococcus pneumoniae*, β -hemolytic streptococcus, *Staphylococcus aureus*, α -hemolytic streptococcus, *Klebsiella pneumoniae*, respectively. Gansu mixture also had a weak anti RSV effect *in vitro*. **Conclusion** Gansu Mixture has obvious effects on antipyretic and enhancing non-specific immune function, which might be related to its antibacterial and antiviral effects.

Key words: Gansu Mixture; antipyretic; immune enhancing; antibacterial; antiviral

感甦合剂是国医大师郭子光教授根据中医药理论,集60年临床经验,总结出的“心甦”“肾甦”^[1]等系列自拟方之一,主要针对外感病因病机,主治外感发热。郭子光教授认为,外感发热是感受六淫邪气或温热疫毒引起发热的一类病症,往往由多因素引起、多层次受累,表现为“寒温合邪”“合病并病”等复杂演变,三阳合病重在少阳阳明,兼顾太阳之表;寒温合邪当寒温并重,不可偏废^[2]。治疗应以顿挫热势、截断传变为急,以重剂小柴胡汤、白虎汤为主,加羌活、防风、葛根解太阳之表,银花、连翘、牛蒡子、板蓝根清解表卫之热,为基本方^[3]。该方在临床应用多年,疗效显著。本研究中通过探讨感甦合剂的解热、增强免疫及抑菌、抗病毒作用,对其有效性进行科学评价,为院内制剂的开发奠定基础。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

仪器: BASIC 70VB 0370 型半自动生化分析仪(法国 Secoman 公司); OLYMPUS CKX41 型倒置显微镜(日本奥林巴斯公司); P200 型 F123061 微量移液器(法国

Gilson 公司); GSV-DA-1 型隔水式电热恒温培养箱(湖北省黄石市医疗器械厂)。

试药: 感甦合剂(浸膏)由成都中医药大学附属医院药剂科提供,含量为每1 mL含4.45 g生药,批号为120726,临床用量为1.48 g/kg;内毒素(美国 Sigma 公司,批号为 L2880);利巴韦林注射液(天津药业焦作有限公司,国药准字 H19992467,批号为 11100521,规格为每支 100 mg/mL);DMEM 培养基(Gibco™ 公司,批号为 1345538);胎牛血清(海克隆 <HyClone> 生物化学制品 <北京> 有限公司,批号为 NVM0347)。

动物: 日本大耳白实验兔,体质量 1.8~2.2 kg,雌雄不拘,由四川省实验动物专委会养殖场提供,普通级,许可证号为 SCXK(川)2013-14。昆明种小鼠,体质量 18~22 g,雌雄各半,由成都中医药大学实验动物中心提供,SPF 级,许可证号为 SCXK(川)2014-11。饲养观察室温度 22~24℃,相对湿度 65%~75%。本实验经医院试验动物伦理委员会审批。

菌株、病毒株、细胞株: 金黄色葡萄球菌

*基金项目: 四川省科技计划项目[2019YJ0614]。

第一作者: 程媛,女,硕士研究生,主管药师,研究方向为中药药理学,(电子信箱)150120239@qq.com。

[△]通信作者: 盛蓉,女,硕士研究生,主任药师,研究方向为中药质量控制与制剂,(电子信箱)1633270691@qq.com。

(ATCC25923), 甲型链球菌, 乙型溶血性链球菌和肺炎链球菌, 肺炎克雷伯菌, 呼吸道合胞病毒(RSV), 人喉癌上皮(Hep-2)细胞, 均由四川大学基础医学与法医学院微生物学教研室保存和提供。置于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液, 在 37℃ 及 5% CO₂ 培养箱中培养, 每 2~3 d 传代 1 次。

1.2 方法

内毒素致家兔发热模型实验: 选择基础体温在 38.9~39.9℃ 范围内的家兔 50 只, 将其随机分为 5 组, 每组 10 只, 分别为感甦合剂高、中、低剂量组(每 1 kg 体重分别含 14.8, 7.4, 3.7 g 生药), 阿司匹林组(0.15 g/kg)和模型组。感甦合剂高、中、低剂量组分别为临床用药剂量的 10, 5, 2.5 倍。试验当天各组以 4 mL/kg 灌胃给药 1 次, 给药 0.5 h 后, 耳缘静脉注射细菌内毒素 1 μg/kg, 并于 1, 2, 3, 4, 5, 6 h 时测定各组家兔体温升高值, 以体温升高值为纵坐标, 时间为横坐标, 绘制家兔发热体温曲线图, 详见图 1。以体温反应指数(TRI)表示体温曲线与基线间的面积值, n 小时的 TRI 表示为 TRI _{n} 。

小鼠体内碳粒廓清实验: 将 60 只昆明种小鼠按体重和性别随机分为 5 组, 每组 12 只, 分别为感甦合剂高、中、低剂量组(每 1 kg 分别含 35.52, 17.76, 8.88 g 生药), 甘露聚糖肽组(0.02 g/kg)和正常对照组。感甦合剂高、中、低剂量组分别为临床用药剂量的 24, 12, 6 倍。每天灌胃给药 1 次, 给药容量为每 10 g 体重 0.2 mL, 正常对照组以等量蒸馏水灌胃。连续给药 7 d, 末次给药后 1 h, 经尾静脉注射 50% 墨汁 0.1 mL/10 g, 分别于注射后 0.5, 3.0 min 时经小鼠眼眶血管丛取血 20 μL, 放入 2 mL 0.1% Na₂CO₃ 溶液中, 摇匀, 在 675 nm 波长处测定光密度(OD)值。按下式计算吞噬(廓清)指数(K): $K = (\log OD_1 - \log OD_2) / (T_2 - T_1)$ 。处死小鼠, 剖取肝、脾并称质量, 按下式计算吞噬活性(校正廓清指数)α值: $\alpha = K^{1/3} \times \text{体质量} / (\text{肝质量} + \text{脾质量})$ 。

体外抑菌实验: 感甦合剂以含生药 1 000 mg/mL 的无菌水解酪蛋白培养基(MH 肉汤培养基)为第 1 管, 青霉素钠以含药 100 U/mL 的 MH 肉汤为第 1 管, 连续对倍稀释至第 10 管, 每管体积为 2 mL。制备感甦合剂生药含量为 1 000, 500, 250, 125, 62.5, 31.3, 15.6, 7.8, 3.9, 1.95 mg/mL 的系列含药 MH 肉汤培养基; 青霉素钠 100, 50, 25, 12.5, 6.3, 3.1, 1.6, 0.8, 0.4, 0.2 IU/mL 的 MH 肉汤培养基供体外抗菌试验用。用微量移液器取菌液 0.1 mL, 加入到稀释好药液的试管中(由低浓度到高浓度)。37℃ 培养 24 h 后肉眼观察, 未见细菌生长的最低药物浓度为感甦合剂或青霉素钠对检测菌的最低抑菌浓度(MIC), MIC 取 3 次实验结果的平均值。将肉眼观察未见细菌生长的各管培养基充分摇匀, 分别取 0.1 mL 倾注于培养皿, 37℃ 培养 18 h, 平皿上菌落数小于

5 个的最低药物浓度为感甦合剂或青霉素钠对检测菌的最低杀菌浓度(MBC), MBC 取 3 次实验结果的平均值。

体外抗病毒实验: 将利巴韦林注射液及感甦合剂分别用无菌水做 1/10 稀释, 用相应细胞培养液做连续对倍稀释, 共 8 个稀释浓度即制备感甦合剂生药含量为 236.8, 118.4, 59.2, 29.6, 14.8, 7.4, 3.7, 1.85 mg/mL 的系列含药无菌 DMEM 培养基; 利巴韦林含量为 5.00, 2.50, 1.25, 0.63, 0.31, 0.16, 0.08, 0.04 mg/mL 的系列含药无菌 DMEM 培养基供体外抗病毒试验用。分别加入到培养的 Hep-2 细胞中, 各浓度做 3 复孔。37℃、5% CO₂ 培养 5 d 后, 在显微镜下观察细胞病变情况。以引起半数细胞发生病变的药物浓度判定为半数毒性浓度(TC₅₀), 以完全不引起细胞发生病变的药物浓度判定为最大无毒浓度(TC₀)。将收集的含有 RSV 的培养液做连续 10 倍稀释, 共 14 个浓度(10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, ..., 10⁻¹⁴), 加入到培养有 Hep-2 细胞的 96 孔板中, 各浓度做 3 复孔。37℃、5% CO₂ 培养 5 d, 观察细胞病变效应(CPE)和细胞培养半数感染量(TCID₅₀)效价。待 96 孔板中的 Hep-2 细胞培养生长成片时, 加入 100 × TCID₅₀ RSV 病毒液 0.1 mL, 37℃、5% CO₂ 吸附 2 h, 吸出未吸附病毒。分别加入稀释好的感甦合剂和利巴韦林注射液, 共 7 个浓度, 每个浓度做 3 复孔。显微镜下观察 CPE, 以能抑制病毒所致 CPE 的 50% 时的最低药物浓度为半数抑制浓度(IC₅₀)。计算选择指数(SI), $SI = TC_{50} / IC_{50}$, 选择指数越高, 抗病毒作用越强。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计学软件处理。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示, 各组间比较行 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对内毒素致家兔发热模型的作用

家兔耳缘静脉注射内毒素(每 1 kg 体重 1 μg) 1~4 h 内, 模型组家兔出现发热、发抖、蜷缩、少动、呼吸急促、耳缘静脉淤血等现象, 4~6 h 状态逐渐减轻; 感甦合剂给药组和阳性药组一般状态较模型组好。家兔发热曲线图见图 1。可见, 感甦合剂低剂量组和阿司匹林组的发热曲线与基线间的面积均小于模型组。

家兔内毒素造模后不同时间 TRI 见表 1。可见, 感

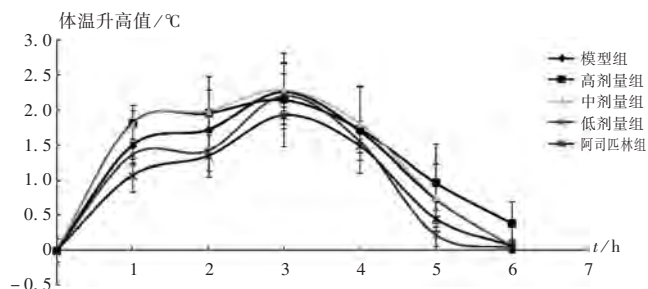


图1 家兔发热曲线图

甙合剂低剂量组在 3,5,6 h 的 TRI 与模型组相比有显著差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),阿司匹林肠溶片组在 1~6 h 各时间点的 TRI 与模型组相比均有显著差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表 1 家兔内毒素造模后不同时间 TRI 比较 ($\bar{X} \pm s$, cm², $n = 10$)

组别	TRI ₁	TRI ₂	TRI ₃	TRI ₄	TRI ₅	TRI ₆
模型组	0.75±0.14	2.35±0.38	4.34±0.59	6.31±0.75	7.53±0.83	7.93±0.89
感甙合剂高剂量组	0.91±0.13	2.80±0.52	4.85±1.07	6.79±1.66	8.14±2.16	8.82±2.48
感甙合剂中剂量组	0.90±0.10	2.79±0.33	4.92±0.63	6.97±0.10	8.25±1.42	8.66±1.66
感甙合剂低剂量组	0.68±0.06	2.08±0.16	3.89±0.48*	5.77±0.75	6.66±0.86*	6.79±0.93 ^Δ
阿司匹林组	0.54±0.08 ^Δ	1.75±0.23 ^Δ	3.38±0.43 ^Δ	5.09±0.57 ^Δ	6.06±0.63 ^Δ	6.32±0.73 ^Δ

注:与模型组相比,* $P < 0.05$,^Δ $P < 0.01$ 。表 2 同。

家兔内毒素造模后不同时间点体温升高值见表 2。可见,感甙合剂低剂量组在 2,4,5 h 时的体温升高值与模型组相比有显著差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$);阿司匹林组在 1~5 h 各时间点的体温升高值与模型组相比有显著差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。表明感甙合剂低剂量组和阿司匹林组均能抑制内毒素引起的家兔发热,具有明显的解热作用。

2.2 对小鼠体内碳粒廓清的影响

结果见表 3。可见,感甙合剂高、中、低剂量组,甘露聚糖肽胶囊组灌胃对小鼠体内碳粒廓清吞噬指数和吞噬活性均有一定的升高作用。其中,感甙合剂高、中剂量组与正常对照组比较有显著差异 ($P < 0.05$);低剂量组与正常对照组比较无显著差异。表明感甙合剂能增强小鼠网状内皮细胞的吞噬功能,具有增强免疫功能的作用。

2.3 体外抑菌实验

结果见表 4。在体外抑菌实验研究中,感甙合剂显示出对肺炎链球菌、乙型溶血性链球菌、金黄色葡萄球菌和甲型溶血性链球菌的抑制作用,其中对肺炎链球菌的抑菌作用最好。感甙合剂抑菌作用由强到弱的排列顺序为肺炎链球菌>乙型溶血性链球菌>金黄色葡萄球菌>甲型溶血性链球菌>肺炎克雷伯菌。

2.4 体外抗病毒实验

结果见表 5。感甙合剂及对 Hep-2 细胞 TC₅₀ 浓度及 TC₀ 浓度分别为 1/640(7.40 mg/mL), 1/2 560(1.85 mg/mL);利巴韦林注射液对细胞的 TC₅₀ 浓度及

表 3 感甙合剂对小鼠单核细胞吞噬功能的影响 ($n = 12$)

组别	剂量(g/kg)	吞噬指数($\bar{X} \pm s$)	吞噬活性($\bar{X} \pm s$)
正常对照组		0.09±0.03	7.10±1.21
感甙合剂高剂量组	35.52	0.15±0.06*	8.42±1.37*
感甙合剂中剂量组	17.76	0.14±0.09*	8.31±1.72*
感甙合剂低剂量组	8.88	0.12±0.06	7.18±1.45
甘露聚糖肽胶囊组	0.02	0.15±0.04 ^Δ	8.62±0.73 ^Δ

注:与正常对照组相比,* $P < 0.05$,^Δ $P < 0.01$ 。

表 4 感甙合剂与青霉素钠对各检测菌的 MIC 和 MBC 值

药物名称	剂量	甲型溶血性	乙型溶血	肺炎链	金黄色葡萄	肺炎克雷
		链球菌	性链球菌	球菌	球菌	伯菌
感甙合剂	MIC(mg/mL)	667	167	125	250	>1 000
	MBC(mg/mL)	>1 000	500	500	500	>1 000
青霉素钠	MIC(U)	17	1.56	<0.19	0.39	>100
	MBC(U)	>100	6.25	<0.19	1.56	>100

表 5 感甙合剂和利巴韦林的细胞毒性测定结果

药物稀释度	细胞病变百分率(%)		药物稀释度	细胞病变百分率(%)	
	感甙合剂	利巴韦林		感甙合剂	利巴韦林
1/20	100	50	1/640	50	0
1/40	100	0	1/1 280	25	0
1/80	100	0	1/2 560	0	0
1/160	100	0	细胞对照	0	0
1/320	75	0			

TC₀ 浓度分别为 1/20(5.00 mg/mL), 1/40(2.50 mg/mL)。在 DMEM 培养基中,RSV 的 TCID₅₀ 效价为 10⁻¹²,测定结果见表 6。

表 6 RSV 的 TCID₅₀ 效价测定结果

病毒稀释度	细胞病变百分率(%)	病毒稀释度	细胞病变百分率(%)
10 ⁻¹	100	10 ⁻⁹	100
10 ⁻²	100	10 ⁻¹⁰	75
10 ⁻³	100	10 ⁻¹¹	75
10 ⁻⁴	100	10 ⁻¹²	50
10 ⁻⁵	100	10 ⁻¹³	25
10 ⁻⁶	100	10 ⁻¹⁴	0
10 ⁻⁷	100	细胞对照	0
10 ⁻⁸	100		

由表 7 可见,感甙合剂及利巴韦林的 IC₅₀ 浓度分

表 2 家兔内毒素造模后不同时间体温升高值 ($\bar{X} \pm s$, $n = 10$)

组别	基础体温(℃)	不同时间体温升高值(℃)					
		1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
模型组	39.39±0.26	1.49±0.27	1.71±0.27	2.25±0.26	1.69±0.15	0.73±0.25	0.06±0.07
感甙合剂高剂量组	39.39±0.24	1.81±0.26	1.96±0.52	2.15±0.67	1.73±0.62	0.97±0.54	0.39±0.32
感甙合剂中剂量组	39.40±0.24	1.79±0.20	1.98±0.31	3.28±0.40	1.80±0.52	0.75±0.47	0.07±0.09
感甙合剂低剂量组	39.39±0.25	1.36±0.12	1.42±0.29*	2.20±0.46	1.55±0.16*	0.22±0.16 ^Δ	0.03±0.07
阿司匹林组	39.39±0.23	1.07±0.17 ^Δ	1.34±0.23*	1.92±0.29*	1.48±0.12*	0.45±0.20*	0.06±0.12

表7 感甦合剂抗RSV体外实验结果(%, n=3)

药物浓度	细胞病变百分率		药物浓度	细胞病变百分率	
	感甦合剂	利巴韦林		感甦合剂	利巴韦林
1/40	ND	0	1/5 120	100	ND
1/80	ND	0	1/10 240	100	ND
1/160	ND	25	1/20 480	100	ND
1/320	ND	25	1/40 960	100	ND
1/640	ND	50	1/81 920	100	ND
1/1 280	50	75	细胞对照	0	0
1/2 560	75	100	病毒对照	100	100

注:ND为未检出。

别为1/1 280(3.70 mg/mL), 1/640(0.16 mg/mL)。根据体外抗病毒实验结果和SI计算公式,得出利巴韦林抗RSV的选择指数为32.00,感甦合剂抗RSV的选择指数为2.00。表明感甦合剂有微弱的抗呼吸道合胞病毒作用。

3 讨论

感甦合剂方中竹叶柴胡、生石膏、粉葛解表退热,防风、羌活祛风散寒,金银花、板蓝根、黄芩清热解毒、增强免疫。中医理论认为,外感风热为身体的免疫力下降,受到外界风热邪气刺激而引起的感冒,应采用疏散风热、清热解毒的治疗方案^[4]。因此,本研究中采用内毒素致家兔发热模型^[5]评价的解热作用,采用小鼠碳粒廓清吞噬实验^[6]评价增强免疫作用。结果显示,低剂量感甦合剂能明显抑制内毒素引起的家兔发热作用,高、中剂量感甦合剂能明显升高正常小鼠体内碳粒廓清吞噬指数和吞噬活性,增强小鼠网状内皮细胞的吞噬功能,表明感甦合剂对外感风热具有明显的解热和增强免疫作用。

中医的外感风热属现代医学中上呼吸道感染范畴。现代医学认为,受凉、淋雨、过度疲劳等因素会导致呼吸道局部甚至全身的防御功能下降,为病原微生物的迅速繁殖提供有利环境,最终导致疾病发生^[7]。急性上呼吸道感染多由病毒和细菌感染引起^[8],现代医学对于细菌性上呼吸道感染的治疗多以抗生素为主,但随着致病菌耐药性的增强,临床治疗效果日渐减弱。常见的上呼吸道感染致病菌主要为革兰阳性菌,以溶血性链球菌最多见,其次为肺炎链球菌和葡萄球菌等,少见革兰阴性菌^[9]。本研究中,选取4个最常见的革兰阳性菌(甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌、肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌)及一种常见的革兰阴性菌(肺炎克雷伯菌)^[10]。采用体外抑菌实验评价感甦合剂对常见上呼吸道感染细菌是否存在抑制生长作用。结果显示,感甦合剂对常见革兰阳性菌及革兰阴性菌均有抑菌作用,作用由强到弱依次为肺炎链球菌、乙型溶血性链球菌、金黄色葡萄球菌、甲型溶血性链球菌、肺炎克雷伯菌。表明感甦合剂对常见上呼吸道感染细菌均有一定的抑制作用,且对革兰阳

性菌作用强于革兰阴性菌。

上呼吸道感染常见的致病病毒主要包括流行性感冒病毒(A型及B型)、副流感病毒(1,2,3,4型)、呼吸道合胞病毒等^[11-12]。本研究结果显示,感甦合剂有微弱的抗呼吸道合胞病毒的作用。表明感甦合剂有一定的抗病毒作用,但其抑菌作用效果更显著。需要注意的是,上呼吸道感染大部分是由病毒感染造成的^[13],由于本研究经费所限,只对呼吸道合胞病毒进行了生长抑制实验,未进行流感病毒和副流感病毒研究,因此,在将来的研究中可重点针对其他上呼吸道感染相关病毒,继续探讨感甦合剂的抗病毒作用。

综上所述,感甦合剂有解热和增强机体非特异性免疫功能的作用,其发挥解热固本的药效作用机制可能与其对常见上呼吸道感染细菌和病毒的抑制作用相关。

参考文献:

- [1] 李 秘,李 凯,江 泳. 基于“肾甦”方的国医大师郭子光治疗慢性肾功能衰竭思路探析[J]. 时珍国医国药,2014,25(6):1493-1494.
- [2] 骆丽娟,黄金珠,郭子光. 郭子光教授辨治外感发热的经验[J]. 四川中医,2006,24(1):7-8.
- [3] 乔卫龙,李炜弘,史年刚,等. 郭子光教授临床用药规律与理论研究[J]. 成都中医药大学学报,2016,39(4):5-7.
- [4] 高鹏翔,陈金水,范 恒,等. 中医学[M]. 第9版. 北京:人民卫生出版社,2018:132-133.
- [5] 魏 伟,吴希美,李元健. 药理实验方法学[M]. 第4版. 北京:人民卫生出版社,2010:1567-1569.
- [6] 段小花,马晓霞,陈艳林,等. 不同剂量和煎煮时间的附子煎剂对小鼠非特异性免疫和毒性的影响[J]. 时珍国医国药,2019,30(2):345-347.
- [7] 王海霞. 小儿豉翘清热颗粒改善急性上呼吸道感染(外感风热挟滞证)患儿临床症状及炎症因子的观察[J]. 海峡医药,2019,31(1):199-201.
- [8] 葛均波,徐永健,王 辰. 内科学[M]. 第9版. 北京:人民卫生出版社,2018:15-18.
- [9] 姚双明. 呼吸道感染患者病原性细菌的临床检验结果分析[J]. 中国药物与临床,2019,19(8):142-143.
- [10] 武银银,顾文婧,张新星,等. 2007年至2016年苏州地区儿童呼吸道革兰阴性杆菌感染构成及耐药性分析[J]. 中华实用儿科临床杂志,2019,34(10):734-739.
- [11] ZHANG D, HE Z, XU L, et al. Epidemiology characteristics of respiratory viruses found in children and adults with respiratory tract infections in southern China[J]. International Journal of Infectious Diseases,2014,25(2):159-164.
- [12] DONG W, CHEN Q, HU Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of respiratory viral infections in children in Shanghai, China[J]. Arch Virol,2016,161(7):1907-1913.
- [13] 安徽省卫生和计划生育委员会. 安徽省上呼吸道感染分级诊疗指南[J]. 安徽医学,2017,38(8):1094-1099.

(收稿日期:2019-11-18;修回日期:2020-03-15)