

## 论 著

# 双黄连雾化吸入对小鼠 H9N2 禽流感病毒感染的疗效研究

丘国清, 杜秋伶, 江海明, 黄文博, 杨子峰

(广州医科大学附属第一医院, 广州呼吸健康研究院, 呼吸疾病国家重点实验室, 国家呼吸系统疾病临床医学研究中心, 广东 广州, 510120)

**摘要:** 目的 探讨双黄连雾化吸入(SHL Inh)对小鼠 H9N2 亚型禽流感病毒感染的疗效。方法 将 45 只 BALB/c 小鼠随机分为正常对照组、病毒对照组、奥司他韦组(阳性药对照)、双黄连腹腔注射(SHL Ip)组和 SHL Inh 组, 每组 9 只。正常对照组经鼻滴入磷酸盐缓冲液(PBS), 其余 4 组均经鼻接种等量 H9N2 禽流感病毒。奥司他韦组、SHL Ip 组和 SHL Inh 组在接种病毒后分别给予相应药物治疗, 正常对照组和病毒对照组给予等量蒸馏水, 连续给药 5 d。每日记录小鼠体质量, 接种后第 5 天处死, 取肺称重, 取部分肺组织制作 HE 病理切片, 其余肺组织匀浆后测定病毒滴度、炎症因子表达水平。结果 病毒对照组和 SHL Ip 组小鼠肺指数均高于正常对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。SHL Inh 组肺指数低于病毒对照组, 高于 SHL Ip 组, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。病毒对照组肺病毒滴度为  $(4.06 \pm 0.41)$  lgTCID<sub>50</sub>/g, 奥司他韦组、SHL Inh 组和 SHL Ip 组病毒滴度依次为  $(3.29 \pm 0.27)$ 、 $(3.44 \pm 0.46)$ 、 $(3.33 \pm 0.43)$  lgTCID<sub>50</sub>/g, 均低于病毒对照组病毒滴度, 差异有统计学意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。SHL Inh 并未改善小鼠体质量下降, 也未降低肺炎因子水平。SHL Ip 组与 SHL Inh 组在体质量下降、肺炎因子水平、肺病毒滴度和肺病理炎症方面的差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 SHL Inh 具有抗 H9N2 亚型禽流感病毒的疗效, 且雾化给药与注射给药在降低病毒滴度方面的疗效相当。

**关键词:** 双黄连; 雾化吸入; H9N2; 禽流感病毒; 药效

中图分类号: R 511; R 285.6 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2021)20-001-05 DOI: 10.7619/jcmp.20212844

## Efficacy of Shuanghuanglian aerosol inhalation in treatment of mice with H9N2 avian influenza virus infection

QIU Guoqing, DU Qiuling, JIANG Haiming, HUANG Wenbo, YANG Zifeng

(the First Hospital Affiliated to Guangzhou Medical University, Guangzhou Institute of Respiratory Health, State Key Laboratory of Respiratory Diseases, National Clinical Research Center for Respiratory Disease, Guangzhou, Guangdong, 510120)

**Abstract: Objective** To explore the efficacy of Shuanghuanglian aerosol inhalation (SHL Inh) in treatment of mice with H9N2 subtype avian influenza virus infection. **Methods** Forty-five BALB/c mice were randomly divided into normal control group, virus control group, oseltamivir group (controls with positive drugs), SHL intraperitoneal injection (SHL Ip) group and SHL Inh group, with 9 mice in each group. The normal control group was injected with phosphate buffer (PBS) through the nose, and the other four groups were inoculated with the same amount of H9N2 avian influenza virus through the nose. Oseltamivir group, SHL Ip group and SHL Inh group were treated with corresponding drugs respectively after inoculation with virus, the normal control group and virus control group were given the same amount of distilled water for 5 days. The body weights of mice were recorded every day, and the mice were killed on the 5<sup>th</sup> day after inoculation. The lungs were weighed, and partial lung tissues were taken to make HE pathological sections, and the virus titer and the expression level of inflammatory factors were measured after homogenization of other lung tissues. **Results** The lung indexes of mice in the virus control group and the SHL Ip group were significantly higher than

that in the normal control group ( $P < 0.01$ ). The lung index in the SHL Inh group was significantly lower than that in the virus control group and higher than that in the SHL Ip group ( $P < 0.01$ ). The pulmonary virus titer in the virus control group was  $(4.06 \pm 0.41) \lg\text{TCID}_{50}/\text{g}$ , while the virus titers in the oseltamivir group, SHL Inh group and SHL Ip group were  $(3.29 \pm 0.27)$ ,  $(3.44 \pm 0.46)$  and  $(3.33 \pm 0.43) \lg\text{TCID}_{50}/\text{g}$ , which were significantly lower than that in the virus control group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). SHL Inh did not improve the decline of body mass or reduce the level of pneumonia factors in mice. There were no significant differences in body mass decline, pneumonia factors levels, pulmonary virus titer and pulmonary pathological inflammation between the SHL Ip group and the SHL Inh group ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** SHL Inh has the effect of anti-H9N2 subtype avian influenza virus, and the effect of atomization administration is equivalent to that of injection administration in reducing virus titer.

**Key words:** Shuanghuanglian; atomization inhalation; H9N2; avian influenza virus; efficacy

双黄连由金银花<sup>[1-2]</sup>、黄芩<sup>[3-4]</sup>和连翘<sup>[5-6]</sup>这 3 味药组成,临床上常被用于治疗呼吸道感染性疾病等。既往研究<sup>[7]</sup>表明,双黄连可抑制 H9N2 亚型禽流感病毒(AIV)引起的小鼠肺炎实变,延长生存时间,降低肺病毒滴度。近年来,双黄连在临床应用中的不良反应报道多见,尤以注射剂型最为显著,极少数患者可出现过激性休克甚至死亡<sup>[8-10]</sup>。双黄连不良反应的发生率和严重程度与药物剂型密切相关,注射剂型高于口服剂型<sup>[11-12]</sup>。雾化吸入是临床常用的给药途径,可将药物直接输送到患者的呼吸道内,可达到较高的局部药物浓度,减少全身不良反应<sup>[13-14]</sup>。目前,双黄连以雾化吸入方式治疗 H9N2 亚型 AIV 的研究尚未见报道。本研究以 H9N2 亚型 AIV 感染小鼠建立模型,进行双黄连雾化吸入(SHL Inh)干预,通过观察小鼠肺部炎症和肺病毒滴度,评价双黄连雾化给药对小鼠 H9N2 亚型 AIV 感染的疗效,并比较雾化给药与注射给药的差异,现将结果报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物和病毒

Balb/c 小鼠 45 只,5~6 周龄,雌性,无特定病原体(SPF)级,体质量 $(15.20 \pm 0.93) \text{ g}$ ,广东省医学实验动物中心提供,合格证编号 44007200059858。H9N2 亚型 AIV, A/Chicken/Guangdong/1996(H9N2),华南农业大学陈建新教授馈赠,本实验室扩增保存。

### 1.2 实验药物与试剂

注射用双黄连(冻干),哈药集团中药二厂提供,批号 1807508。奥司他韦,罗氏制药提供,编

号 HEC-Amms-0910017。ELISA 试剂盒(R&D Systems 品牌,购自上海优宁维生物科技股份有限公司),白细胞介素-6(IL-6)(货号 M6000B)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )(货号 MTA00B)和重组人趋化因子 CXCL9(MIG)(货号 MCX900)。

### 1.3 仪器

电子天平,梅特勒托利多仪器(上海)有限公司生产,型号 AL201。倒置显微镜,莱卡(Leica)公司生产,型号 DM 3000。分光光度计,赛默飞世尔科技(中国)有限公司生产,型号 NanoDrop 2000。压缩式雾化器,欧姆龙(大连)有限公司生产,型号 C28P。小鼠雾化箱,自制。

### 1.4 动物分组

将 45 只 BALB/c 小鼠适应性饲养 7 d,随机分为正常对照组、病毒对照组、奥司他韦组(阳性药对照)、双黄连腹腔注射(SHL Ip)组(标准对照)和 SHL Inh 组共 5 组,每组 9 只。

### 1.5 实验处理及给药

正常对照组经鼻滴入磷酸盐缓冲液(PBS),其他 4 组均经鼻吸入 2 个半数致死量( $2 \text{ LD}_{50}$ ) H9N2 亚型 AIV;正常对照组和病毒对照组滴鼻后予蒸馏水灌胃( $10 \text{ mL}/\text{kg}$ );奥司他韦组予奥司他韦灌胃, $75 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ;SHL Ip 组予双黄连腹腔注射, $3000 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 。SHL Inh 组予置入自制雾化箱雾化吸入给药。自制雾化箱长、宽、高分别为 40、30、30 cm,设置出入口  $1.5 \text{ cm}^2$ ,入口处接雾化器,出口处开放排入通风安全柜。雾化药液以无菌蒸馏水溶解注射用双黄连冻干粉,浓度为  $300 \text{ mg}/\text{mL}$ ,超声雾化器以  $0.5 \text{ mL}/\text{min}$  的速率持续雾化双黄连药液,气雾经导管导入雾化箱内,小鼠置于雾化箱内,以全身暴露方式<sup>[15]</sup>

经鼻吸入双黄连气雾。2次/d, 1h/次。各组均采用上述方式连续给药5d。

### 1.6 标本收集与检测

每日记录各组小鼠体质量,直至第5天,处死后取肺称重,计算肺指数,肺指数 = [肺质量(g)/体质量(g)] × 100%<sup>[16]</sup>。取部分肺组织制作HE病理切片,其余肺组织匀浆后测定肺病毒滴度[半数组织培养感染剂量(TCID<sub>50</sub>)]、炎症因子[IL-6、MIG和TNF-α]水平。肺病毒滴度TCID<sub>50</sub>采用Reed-Muench法<sup>[17]</sup>计算。

### 1.7 统计学方法

采用Prism 5.0分析数据,计量资料采用( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用t检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 SHL Inh对H9N2亚型AIV感染小鼠

#### 体质量下降的抑制作用

正常对照组小鼠体质量变化率增高至(120.0 ± 4.9)%,病毒对照组小鼠体质量变化率降低至(87.4 ± 5.7)%,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),感染小鼠模型成立。奥司他韦组小鼠体质量变化率增高至(108.8 ± 5.3)%,与病毒对照组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而SHL Inh组、SHL Ip组体质量变化率分别降低至(90.9 ± 5.8)%、(90.2 ± 4.8)%,与病毒对照组比较,均未能抑制感染小鼠的体质量下降,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见图1。

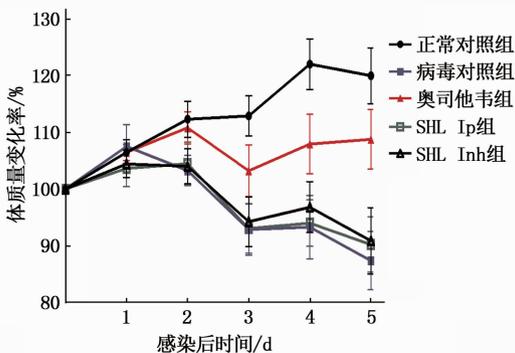
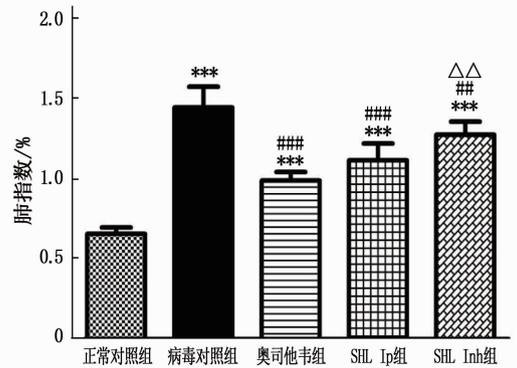


图1 各组小鼠不同时点的体质量变化率

### 2.2 SHL Inh对H9N2亚型AIV感染小鼠肺指数的影响

正常对照组小鼠肺指数为(0.65 ± 0.04)%,病毒对照组小鼠肺指数为(1.44 ± 0.13)%,差异有统计学意义( $P < 0.001$ ),感染小鼠模型成立。与病毒对照组比较,奥司他韦组、SHL Inh组、SHL

Ip组小鼠肺指数(0.99 ± 0.05)%、(1.27 ± 0.08)%、(1.11 ± 0.11)%均降低,差异有统计学意义( $P < 0.001$ 或 $P < 0.01$ )。SHL Inh组肺指数高于SHL Ip组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。见图2。



与正常对照组比较,\*\*\* $P < 0.001$ ;

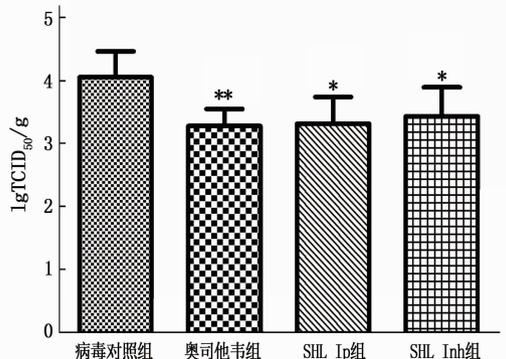
与病毒对照组比较,## $P < 0.01$ ,### $P < 0.001$ ;

与SHL Ip组比较,△△ $P < 0.01$ 。

图2 各组小鼠的肺指数

### 2.3 SHL Inh对H9N2亚型AIV感染小鼠肺病毒滴度的影响

病毒对照组病毒滴度为(4.06 ± 0.41)lgTCID<sub>50</sub>/g,奥司他韦组、SHL Inh组和SHL Ip组病毒滴度依次为(3.29 ± 0.27)、(3.44 ± 0.46)、(3.33 ± 0.43)lgTCID<sub>50</sub>/g,均低于病毒对照组病毒滴度,差异有统计学意义( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。SHL Inh组与SHL Ip组病毒滴度的差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见图3。



与病毒对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。

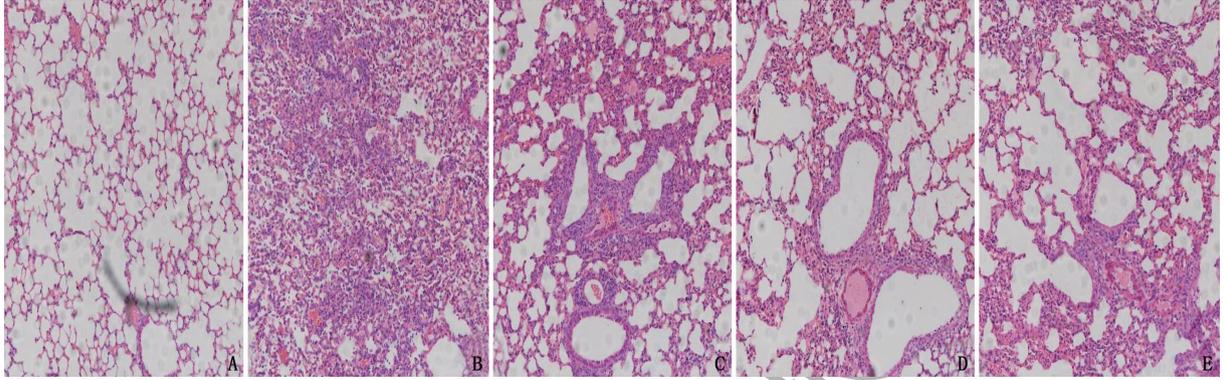
图3 4组H9N2亚型AIV感染小鼠的肺病毒滴度

### 2.4 SHL Inh对H9N2亚型AIV感染小鼠肺组织病理的影响

正常对照组肺组织病理表现:血管周围未见炎性浸润,肺泡间隔无增厚,肺泡无炎性浸润。病毒对照组肺组织病理表现:血管周围炎性浸润且管壁增厚,肺泡间隔增厚,肺泡炎性浸润。奥司他

韦组、SHL Ip 组和 SHL Inh 组肺组织病理表现亦有血管周围炎症浸润,肺泡间隔增厚,但奥司他韦

组、SHL Ip 组和 SHL Inh 组肺泡无明显炎症浸润。见图 4。



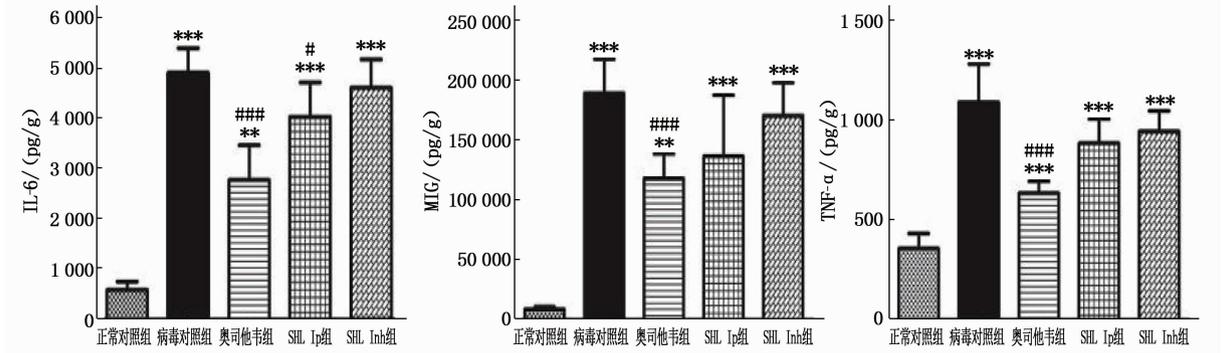
A: 正常对照组; B: 病毒对照组; C: 奥司他韦组; D: SHL Ip 组; E: SHL Inh 组。

图 4 各组小鼠肺组织病理表现(HE 染色,放大倍数 200 倍)

### 2.5 SHL Inh 对 H9N2 亚型 AIV 感染小鼠肺组织炎症因子的影响

与正常对照组比较,其他 4 组肺匀浆炎症因子 IL-6、MIG 和 TNF- $\alpha$  水平均升高,差异有统计学

意义( $P < 0.01$  或  $P < 0.001$ ),感染小鼠模型成立。与病毒对照组比较,奥司他韦组 IL-6、MIG 和 TNF- $\alpha$  均较低,SHL Ip 组 IL-6 较低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.001$ )。见图 5。



A: 各组 IL-6 水平比较; B: 各组 MIG 水平比较; C: 各组 TNF- $\alpha$  水平比较。与正常对照组比较, \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ; 与病毒对照组比较, # $P < 0.05$ , ### $P < 0.001$ 。pg/g 表示每克(g)肺组织中炎症因子(pg)水平。

图 5 各组小鼠肺组织炎症因子水平

## 3 讨论

禽类是甲型流感的主要宿主,其中 H9N2 亚型 AIV 是当前禽类主要的流行亚型<sup>[18]</sup>。H9N2 亚型 AIV 不仅可以直接跨种属感染包括人类在内的哺乳动物,还可以与其他流感病毒进行基因重组而产生新型流感病毒,引起世界范围内的大流行。自 2013 年起在中国流行多年的 H7N9 亚型禽流感病毒,其 6 个母核片段即全部来源于 H9N2<sup>[19]</sup>。因此 H9N2 亚型 AIV 构成了临床和公共卫生的重大威胁<sup>[20-21]</sup>。病毒频繁变异降低了疫苗的时效性并增加了病毒对单分子纯化化合物的耐药概率<sup>[22]</sup>。尽管总体上奥司他韦仍是众多指南<sup>[23-26]</sup>推荐的抗流感病毒的首选药物,但频繁变异的流

感病毒可因不同的机制对奥司他韦、金刚烷胺等产生耐药。抗流感中药的可能作用机制为:一方面,抗病毒中药具有直接的抗病毒作用,通过多靶点作用抑制病毒的复制;另一方面,抗病毒中药可调节机体的免疫、抗炎功能,改善机体抗病毒的反应程度及患者的症状<sup>[27-28]</sup>。因此,抗病毒中药在治疗包括禽流感在内的流感方面具有化学药物所不具备的独特优势。

包括双黄连在内的多种中药或中成药在治疗流感病毒上显示出良好的疗效,但其注射剂型导致不良反应甚至死亡的问题也屡见报道<sup>[29-30]</sup>。与口服、肌肉注射和静脉给药等方式相比,雾化吸入疗法因药物直接作用于靶器官而具有起效迅速、疗效佳、全身不良反应少、不需要患者刻意配

合等优势,在国内外已被广泛应用<sup>[31]</sup>。中药雾化在治疗皮肤、呼吸道疾病方面应用较为广泛,包括慢性阻塞性肺疾病、哮喘、呼吸道感染等<sup>[32-35]</sup>。目前双黄连抗 H9N2 亚型 AIV 的研究,尤其是以雾化吸入给药治疗 AIV 感染的研究较少。本研究结果表明,双黄连雾化给药可改善小鼠肺指数,降低肺病毒滴度,减轻肺病理炎症,雾化给药的疗效良好。在临床实践中,双黄连雾化给药在治疗肺部感染、呼吸道感染(包括咽喉炎、扁桃体炎和细支气管炎等)等方面表现出较好的疗效<sup>[1, 5-6, 36]</sup>。

与 SHL Ip 组比较时,SHL Inh 组肺指数较高,但在肺病毒滴度和肺病理炎症表现上效果相当。本研究中,用于雾化的药液浓度较低,可能是影响 SHL Inh 组在肺指数上未能达到 SHL Ip 组疗效的原因。双黄连注射给药虽具有全身药物浓度较高的优点,但其注射相关不良反应也在一定程度上限制了药物的临床应用<sup>[37]</sup>。另外,中药注射剂通常需要较多液体配置,以某种双黄连注射用粉剂(600 mg/支)为例,其推荐配置液体用量需要 500 mL,对于心肾功能不全的患者而言,过多的液体将会加重心肾负担。因此,虽然双黄连雾化吸入抗病毒效果不及注射给药,但雾化吸入给药无需静脉穿刺,液体负荷低,同时无输液相关不良反应,对于心肾功能不全、过敏体质等患者,仍具有重要的补充和替代作用。

与既往双黄连抗 H9N2 禽流感动物实验研究相似,本研究也证实双黄连可减轻肺部炎症,降低肺指数和肺病毒滴度。在肺炎因子表达上,本研究中 SHL Ip 组肺组织炎症因子 IL-6 表达水平降低,而 SHL Inh 组 IL-6 表达水平未降低,可能与雾化吸入浓度降低有关。在 SHL Ip 组和 SHL Inh 组中,肺组织 MIG 和 TNF- $\alpha$  表达水平较病毒对照组降低,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),可能与小鼠样本量较小有关。当然,本研究也存在不足之处,例如在实验模型中,本研究未能测定双黄连气雾、小鼠肺组织和血液中药物的浓度,因此无法在药代动力学上更好地解释药物对感染小鼠的疗效,后续实验中需加强此方面的研究。

## 参考文献

- [1] 付海生,熊向菁,王青海. 雾化吸入双黄连注射液对慢性扁桃体炎的疗效及 IL-6、hs-CRP 和 TNF- $\alpha$  水平的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(2): 392-395.
- [2] 朱锡华. 双黄连粉针剂治疗慢性支气管炎继发肺部感染疗效观察[J]. 临床合理用药杂志, 2018, 11(34): 59-60.
- [3] 马冬梅,陶庆春,齐宏伟. 双黄连联合哌拉西林/他唑巴坦或头孢哌酮/舒巴坦对广泛耐药鲍曼不动杆菌的抑菌分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(9): 1091-1094.
- [4] 马宗良. 双黄连口服液(仅适用于儿童)佐治流行性腮腺炎的临床疗效观察[J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(38): 159-159, 166.
- [5] 李雅莉,张波. 双黄连氧气驱动雾化吸入联合 NCPAP 治疗小儿重症支原体肺炎合并呼吸衰竭的疗效及对血清 Leptin、IL-17、IL-33 的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27(14): 1505-1508, 1579.
- [6] 王秀静. 双黄连口服液(仅适用于儿童)联合干扰素雾化治疗小儿支气管炎[J]. 内蒙古中医药, 2018, 37(4): 14-15.
- [7] 周雪梦,陆春妮,元元宝,等. 清开灵和双黄连口服液体内抗禽流感病毒作用[J]. 中草药, 2011, 42(7): 1351-1356.
- [8] 祝桂欣. 双黄连注射剂不良反应的原因及分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(40): 124-124.
- [9] 郭洁,宋殿荣. 双黄连的药理作用和临床应用及不良反应研究进展[J]. 临床合理用药杂志, 2017, 10(21): 161-163.
- [10] 唐伟,石庆平,马涛,等. 双黄连注射剂不良反应发生率的 meta 分析[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(14): 2732-2742.
- [11] 刘权红,何咏梅. 双黄连制剂临床应用不良反应研究[J]. 临床合理用药杂志, 2012, 5(14): 22-24.
- [12] 李阳革. 两种不同剂型双黄连不良反应类型临床分析[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(1): 136-137.
- [13] 吴明慧,刘强,滕晓茗. 雾化吸入治疗的研究进展[J]. 中国临床新医学, 2018, 11(11): 1167-1171.
- [14] 申昆玲,邓力,李云珠,等. 糖皮质激素雾化吸入疗法在儿科应用的专家共识(2014 年修订版)[J]. 临床儿科杂志, 2014, 32(6): 504-511.
- [15] GUR D, GLINERT I, AFTALION M, et al. Inhalational gentamicin treatment is effective against pneumonic plague in a mouse model[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 741.
- [16] 张中贤,黄剑臻,李沛波. 猴耳环水提取物抗流感病毒的实验研究[J]. 中国热带医学, 2008, 8(1): 30-31, 34.
- [17] REED L J, MUENCH H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints[J]. Am J Epidemiol, 1938, 27(3): 493-497.
- [18] 陆勤勤,刘朔,蒋文明,等. 我国家禽 H7N9 和 H9N2 亚型流感流行病学调查[J]. 中国动物检疫, 2018, 35(11): 1-4.
- [19] PU J, WANG S G, YIN Y B, et al. Evolution of the H9N2 influenza genotype that facilitated the genesis of the novel H7N9 virus[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112(2): 548-553.
- [20] RAHMIRAD S, ALIZADEH A, ALIZADEH E, et al. The avian influenza H9N2 at avian-human interface: a possible risk for the future pandemics[J]. J Res Med Sci, 2016, 21: 51.
- [21] FARZIN H, TOROGHI R, HAGHPARAST A. Up-regulation of pro-inflammatory cytokines and chemokine production in avian influenza H9N2 virus-infected human lung epithelial cell line (A549)[J]. Immunol Invest, 2016, 45(2): 116-129.

- [8] 谢幸, 苟文丽. 妇产科学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013; 102-105.
- [9] 罗颂平, 刘雁峰. 中医妇科学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2016; 94-96.
- [10] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则: 试行[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002; 117-119.
- [11] WEST B T, KAVOUSSI P K, ODENWALD K C, *et al.* Factors associated with subchorionic hematoma formation in pregnancies achieved via assisted reproductive technologies[J]. J Assist Reprod Genet, 2020, 37(2): 305-309.
- [12] KOUAS S, ZOUKAR O, IKRIDIH K, *et al.* Unfavorable progression of a subchorionic hematoma: a case report and review of the literature[J]. GSC Biol And Pharm Sci, 2020, 12(2): 74-79.
- [13] RYDZE R T, BOSLER J, SCHOYER K D. Subchorionic hematoma and implantation: Can better understanding the former help improve the latter[J]. Fertil Steril, 2020, 114(3): 509-510.
- [14] ÖZLER S, GÜMÜŞGÜLER B. Does the measurement of the size of the first trimester subchorionic hematoma by 2D and 3D ultrasonographic techniques have any effect on adverse pregnancy outcomes[J]. Arch Clin Exp Med, 2019; 122-126.
- [15] CHANG S, OTTENSOSER L, WODOSLAWSKY S, *et al.* Is there an association between endometrial thickness at time of frozen embryo transfer and the incidence of subchorionic hematoma or vaginal bleeding[J]. Fertil Steril, 2019, 112(3): e165-e166.
- [16] 胥丽霞, 黄欲晓. 蔡连香补肾安胎方治疗先兆流产[J]. 北京中医药, 2017, 36(8): 719-721.
- [17] 曾丹, 何珊, 邹嵘, 等. 先兆流产孕妇中药合理使用相关知识、态度、行为现状及其影响因素分析[J]. 中医药导报, 2020, 26(4): 48-51.
- [18] 杨碧蓉, 周华. 寿胎丸加味联合黄体酮及低分子肝素治疗复发性流产的临床观察[J]. 世界中医药, 2019, 14(6): 1502-1506.
- [19] 杨泳诗, 徐珉. 寿胎丸治疗先兆流产的效应机制的网络药理学研究[J]. 海南医学院学报, 2020, 26(13): 1019-1027.
- [20] ZHEN D L. Effects of subchorionic haematoma on pregnancy outcomes[J]. Australian Med Student J, 2017, 8(1): 41-5.
- [21] 林洁, 王璇, 刘超萍, 等. 蒲黄黄酮对成年雌性大鼠雌孕激素及其受体的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2012, 22(21): 18-22.

(本文编辑: 周冬梅)

(上接第 5 面)

- [22] KODE S S, PAWAR S D, CHERIAN S S, *et al.* Selection of avian influenza A (H9N2) virus with reduced susceptibility to neuraminidase inhibitors oseltamivir and zanamivir[J]. Virus Res, 2019, 265: 122-126.
- [23] HANPAIBOOL C, LEELAWIWAT M, TAKAHASHI K, *et al.* Source of oseltamivir resistance due to single E119D and double E119D/H274Y mutations in pdm09H1N1 influenza neuraminidase[J]. J Comput Aided Mol Des, 2020, 34(1): 27-37.
- [24] 刘丽儿, 邹丽容, 武婕, 等. 2009—2018 年广东省新甲型 H1N1 流感病毒奥司他韦耐药性分析[J]. 华南预防医学, 2019, 45(3): 211-215.
- [25] TAMURA D, DEBIASI R L, OKOMO-ADHIAMBO M, *et al.* Emergence of multidrug-resistant influenza A (H1N1) pdm09 virus variants in an immunocompromised child treated with oseltamivir and zanamivir[J]. J Infect Dis, 2015, 212(8): 1209-1213.
- [26] WAN X F, CARREL M, LONG L P, *et al.* Perspective on emergence and re-emergence of amantadine resistant influenza A viruses in domestic animals in China[J]. Infect Genet Evol, 2013, 20: 298-303.
- [27] 王雪, 杨巧丽, 史玉柱, 等. 中药抗流感病毒作用及机制的研究概况[J]. 中国医药导报, 2012, 9(33): 27-29.
- [28] 李莉, 杨子峰. 板蓝根抗流感病毒多靶点研究思路综述[J]. 新中医, 2014, 46(3): 202-204.
- [29] 熊运珍, 雷招宝. 双黄连注射剂致 27 例患者死亡文献分析[J]. 中国药房, 2015, 26(5): 653-655.
- [30] 甘国保, 雷招宝. 不同中西药注射剂配伍联用致患者死亡 20 例的原因分析[J]. 抗感染药学, 2019, 16(5): 817-820.
- [31] 王辰, 陈荣昌, 康健, 等. 雾化吸入疗法在呼吸疾病中的应用专家共识[J]. 中华医学杂志, 2016, 96(34): 2696-2708.
- [32] 郑芬. 超声雾化吸入中药溶液治疗过敏性鼻炎 93 例[J]. 中国中医急症, 2009, 18(6): 992-992.
- [33] 霍瑞楼. 中药雾化吸入治疗稳定期重度慢性阻塞性肺疾病临床对照研究[J]. 河北中医, 2016, 38(3): 348-352.
- [34] 周亮, 席建元. 中药雾化结合硫磺膏外治寻常型银屑病血虚风燥证的临床观察[J]. 中国医药指南, 2010, 8(8): 127-128.
- [35] 金丕琳. 中药超声雾化鼻吸入法治疗慢性鼻窦炎[J]. 湖北中医杂志, 2004, 26(8): 20.
- [36] 栾毕奇, 宋广斌. 双黄连注射液雾化吸入治疗 83 例慢性咽喉炎的疗效观察[J]. 医学理论与实践, 2018, 31(8): 1177-1178.
- [37] 韩亿伦, 夏恒, 段金连, 等. 双黄连注射液导致类过敏的物质基础及作用机理[J]. 云南中医学院学报, 2020, 43(5): 90-97.

(本文编辑: 梁琥)