

黄芩黄连水煎剂对厌氧菌的体外抑菌活性

史跃杰^{1,2*}

(1. 郑州大学基础医学院, 郑州 450000; 2. 河南省中医院检验科, 郑州 450002)

[摘要] 目的:观察黄芩、黄连对牙龈紫质单胞菌、中间普氏菌以及核梭杆菌等 3 种厌氧菌的体外抑菌活性。方法:分别将黄芩、黄连 2 味中药制成水煎剂,参考 CLSI2010 以琼脂稀释法测定它们对 3 种厌氧菌的最小抑菌浓度(MIC)。结果:黄芩、黄连对牙龈紫质单胞菌、中间普氏菌、核梭杆菌均具有一定的体外抑菌活性,本研究显示黄连对中间普氏菌的体外抑菌活性最强,黄芩对 3 种厌氧菌均有抑制活性,但均较黄连弱。结论:黄芩、黄连对 3 种厌氧菌均有体外抑菌活性。以黄连对中间普氏菌的体外抑菌作用最强。

[关键词] 黄芩; 黄连; 中草药药敏试验; 厌氧菌

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0226-02

In vitro Inhibitory Activity of Rhizoma Coptidis, Radix Scutellariae on Anaerobes

SHI Yue-jie^{1,2*}

(1. Basic Medical College of Zhengzhou University; 2. Department of Laboratory Science, Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine Zhengzhou 450002, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the inhibitory activity *in vitro* of rhizoma coptidis, radix scutellariae on *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* and provide evidence for drug susceptibility testing of the Chinese herbal. **Method:** The Chinese herbal was pureed, and adopted the methods of agar dilution recommended by CLSI2010 to investigate the MIC of Chinese herbal on the three different kinds of bacteria. **Result:** The coptidis rhizoma, radix scutellariae had different level inhibitory activity *in vitro* on the bacteria strain mentioned above. And the coptidis rhizoma had the most intensive inhibitory on *Prevotella intermedia*, the radix scutellariae has lower level inhibitory activity than the Coptidis Rhizoma. **Conclusion:** Rhizoma coptidis; radix scutellariae had different level inhibitory activity *in vitro* on bacteria. The effect of Radix Scutellariae on *Prevotella intermedia* was the strongest.

[Key words] Rhizoma Coptidis; Radix Scutellariae; Chinese herbal susceptibility test; anaerobic

黄芩和黄连具有清热燥湿、泻火解毒等功效。本研究选用了牙龈紫质单胞菌、中间普氏菌以及核梭杆菌等 3 种致病性厌氧菌作为研究对象,观察黄芩、黄连对 3 种厌氧菌的体外抑菌活性,为治疗厌氧菌感染的中药选用提供实验依据。

1 材料

1.1 菌株与试剂 致病性厌氧菌包括牙龈紫质单胞菌(Pg ATCC33277)、中间普氏菌(Pi ATCC25611)以及核梭杆菌(Fn ATCC10953)均由瑞典 Karolinska 大学微生物科惠赠。Wilkins-Chalgren 厌氧琼脂、Wilkins-Chalgren 厌氧肉汤、M-H 琼脂均为英国 Oxoid 公司产品。

1.2 黄芩黄连煎剂的制备 称取黄连 100 g,充分浸泡 30 min 后加水 1 L 煎煮 2 次,每次 30 min,合并 2 次滤液,文火浓缩至(1 g·mL⁻¹),用孔径为 0.22

[收稿日期] 2011-03-18

[通讯作者] *史跃杰,在读研究生,主管检验师,从事微生物研究, Tel: 15838313796, E-mail: shiyuejiechina@yahoo.com.cn

μm 的 Millex-Gp 滤器进行过滤除菌,于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。同样方法获得黄芩煎剂备用。以上 2 种中药由河南省中医院药剂科提供。

1.3 仪器 细菌比浊仪、2.5 L 厌氧罐、2.5 L 厌氧产气袋、钨粒及 VITEK2 Compact 细菌鉴定仪,均由法国生物梅里埃公司提供;气相色谱仪 FOUCS GC 由美国热电公司提供;Millex-GP 滤菌器由日本 Nippon Millipore ltd 公司提供。

2 方法

2.1 菌株复苏及菌悬液制备 牙龈紫质单胞菌、中间普氏菌以及核梭杆菌分别从 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱取出,使用厌氧肉汤进行复苏,复苏后转种至含脱纤维羊血的厌氧琼脂平板后置于厌氧环境中(具体为 $80\% \text{N}_2, 10\% \text{H}_2, 10\% \text{CO}_2$), $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h。将培养后的菌落使用 VITEK 2 Compact 微生物鉴定仪和气相色谱仪重新验证是否为正确菌株,然后用生理盐水制备菌悬液为 0.5 麦氏浊度。

2.2 中药琼脂稀释平皿制备 黄连琼脂稀释平皿制备方法(参考美国 CLSI2010 厌氧菌药敏试验方法):用 9 支无菌试管,第 1 管加入黄连煎剂,而 2~9 管先各加入 2 mL 0.9% 氯化钠注射液,然后依次倍比稀释。融化 Wilkins-Chalgren 琼脂,将融化的琼脂分装于 9 个棕色小瓶中,每瓶 17 mL,然后分别将每管 2 mL 的黄连煎剂倒入相应瓶中,混匀,置于温箱中平衡温度至 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。吸取 1 mL 的脱纤维羊血加入小瓶中,轻轻混匀,倾注平板(直径 75 mm,每个平板 20 mL 琼脂液)。配制黄连琼脂平皿倍比稀释度分别为 1:10,1:20,1:40,1:80,1:160,1:320,1:640,1:1280,1:2560,所得黄连稀释平皿的质量浓度分别为 100,50,25,12.50,6.25,3.13,1.56,0.78,0.39 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。再以同样方法制备中药黄芩琼脂平皿,同时设不加中药平皿为生长对照。

2.3 抑菌圈的测定 使用滤纸片法观察黄芩、黄连水煎剂对 3 种厌氧菌的抑菌圈。在超净工作台上使用无菌吸管吸取 0.1 mL 麦氏浊度为 0.5 的菌悬液,置于相应的营养平板上,再用涂布棒将菌液涂布均匀。然后用已浸过药液的干燥药敏滤纸片(直径为 6 mm)紧贴在含菌培养皿上,每皿贴 3 片(使用二甲基亚砷作对照),每种菌重复 3 次。将培养皿置于 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中培养 24 h,后测定抑菌圈的直径,取其均值,与抑菌浓度试验结果进行比照。

2.4 MIC 测定 最小抑菌浓度(MIC)用液体稀释

法进行测定。即按每管 5 mL 分装细菌液体培养基后接种相同量的菌液,于 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡培养箱中培养 48 h,另外取不接种任何菌种的培养基作为空白对照。最后,培养基中完全没有细菌生长时的最低浓度即为最小抑菌浓度^[1]。

3 结果

黄芩、黄连对 3 种厌氧菌(牙龈紫质单胞菌、中间普氏菌、核梭杆菌)的 MIC 见表 1。黄芩、黄连对 3 种厌氧菌(牙龈紫质单胞菌、中间普氏菌以及核梭杆菌)均有不同程度的抑菌。其中,黄连对中间普氏菌抑菌能力最强,比对另外 2 种厌氧菌高出 1 个倍比稀释度;黄芩对 3 种厌氧菌同样显示了抑菌能力,但抑菌圈观察都在相对高的浓度下才发生抑菌作用,抑菌能力均低于黄连。

表 1 黄芩、黄连水煎剂对 3 种厌氧菌的 MIC 比较

组别	牙龈紫质单胞菌	中间普氏菌	核梭杆菌
黄芩	1:10	1:10	1:20
黄连	1:320	1:640	1:320
空白	-	-	-

注:“-”无抑菌作用。

4 讨论

黄连根茎中含有多种异喹啉类生物碱,其中以小檗碱含量最高,达 5%~8%。黄连须根中含有小檗碱高达 5%;而黄连叶中含有小檗碱 1.4%~2.9%,实验表明其抑制细菌核酸合成效力在一定范围内会随着药物浓度的增大而增强^[2]。黄芩的主要抑菌成分是黄酮类衍生物,其药理是通过阻断细菌的信号通讯通路以及加速降解细菌内毒素、破坏细菌外层细胞生物膜等机制来抑制多种细菌发挥作用,且具有较广的抗菌谱^[3]。本研究表明黄芩、黄连对厌氧菌具有较好的抑菌活性,黄连作用比黄芩强,黄连对中间普氏菌的抑制作用最强。需要强调的是,中药对厌氧菌的药物敏感试验还没有制定统一的标准,且需要对中药的品种、产地、炮制方法做进一步的摸索和规范化,以便为中药治疗厌氧菌感染提供更科学的实验依据。

[参考文献]

- [1] 张秀珍. 要加强我国临床细菌室厌氧菌的培养技术[J]. 中华检验医学杂志,2002,25(3):133.
- [2] 张喜平,周田美,董晓勤,等. 黄芩苷注射液体外抗菌作用实验研究[J]. 医学研究杂志,2006,35(8):39.
- [3] 宋双红,张媛. HPLC 测定不同产地黄芩中黄酮化合物的含量[J]. 中国中药杂志,2006,31(7):598.

[责任编辑 何伟]