

【论 著】

三种中药抑菌剂体外抑菌效果 及其对皮肤黏膜刺激性观察

武昌俊,戴陈伟,李 舜,童 琳,王 超,周秀红,蔡 标

(安徽省医学科学研究院,安徽合肥 230001)

摘要 目的 观察 3 种中药抑菌剂体外抑菌效果及其对皮肤黏膜刺激性,为实际应用提供科学依据。**方法** 采用纸片法、稀释法和动物试验法,对 3 种中药抑菌剂体外抑菌效果及其皮肤黏膜刺激性进行观察。**结果** 经对蛇床子、红花和黄柏 3 种中药抑菌剂观察结果显示,以红花抑菌剂抑菌作用最强,其对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和白色念珠菌的最低抑菌浓度分别为 0.78%、3.12% 和 12.50%;对上述 3 种细菌的抑菌环均在 13 mm 以上。3 种中药抑菌剂对试验动物完整皮肤和眼黏膜刺激指数均为 0。**结论** 3 种中药抑菌剂对皮肤和眼黏膜均无刺激性,其中红花抑菌剂对 3 种试验菌均有较强的抑菌效果。

关键词 中药抑菌剂;抑菌效果;刺激性

中图分类号:R187

文献标识码:A

文章编号:1001-7658(2019)04-0241-03

DOI:10.11726/j.issn.1001-7658.2019.04.001

Observation on antibacterial efficacy and skin mucosal irritation of three kinds of Chinese herb antibacterial agents

WU Chang-jun, DAI Chen-wei, LI Shun, TONG Lin, WANG Chao, ZHOU Xiu-hong, CAI Biao

(Anhui Academy of Medical Sciences, Hefei Anhui 230001, China)

Abstract Objective To observe antibacterial efficacy and skin mucosal irritation of three kinds of Chinese herb antibacterial agents, provide scientific basis for practical application. **Methods** Paper method, dilution method and animal experiment method were used to observe the invitro antibacterial efficacy and skin mucosa irritation of three kinds of Chinese herb antibacterial agents. **Results** The observation results of three kinds of Chinese herb antibacterial agents showed that the antibacterial efficacy of safflower antibacterial agent against the three kinds of test bacteria was the best in these 3 antibacterial agents. The MIC of safflower antibacterial agent against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* were 0.78%, 3.12% and 12.50%, respectively. The antimicrobial rings of the three test bacteria were all over 13 mm. The skin irritation index and eye irritation index of the three kinds of Chinese herb antibacterial agents were 0. **Conclusion** The three kinds of Chinese herb antibacterial agents were non-irritating to skin and eye mucosa. Safflower antibacterial agent had strong bacteriostatic effect to three test bacteria.

Key words Chinese herb antibacterial agents; antibacterial efficacy; irritation

具有抗抑菌作用的中草药植物是重要的药源,也是现代抗抑菌药物研究热点^[1,2]。目前,市场上中药成分抑菌剂种类繁多,但作用原理和抑菌效果大不相同。因此,选用安全有效的中药抗抑菌剂对于体外抗菌和切断其传播途径,控制疾病的传播,保

护易感人群十分必要。本研究选用蛇床子、红花和黄柏 3 种抑菌剂,对其抑菌效果及其刺激性进行实验室比较研究,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所用中药抑菌剂包括蛇床子剂、红花和黄柏,均为煎煮液体制剂。蛇床子抑菌剂为黄色液体, pH 值为 6.2;红花抑菌剂为棕红色液体, pH 值为 6.5;黄柏抑菌剂为黄色混悬液, pH 值为 5.2;均

〔基金项目〕 安徽省“十三五”医疗卫生重点专科建设项目“病原微生物实验室”(皖卫科教[2017]30号)

〔作者简介〕 武昌俊(1984-),男,安徽无为,人,硕士,助理研究员,从事微生物研究工作。

〔通讯作者〕 蔡标, Email: Caib81@163.com

为提取物。

试验菌株为大肠杆菌(8099)、金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)和白色念珠菌(ATCC 10231),来源于中国普通微生物菌种保藏管理中心。

试验动物用体重 250 ~ 300 g 健康豚鼠和体重为 2.0 ~ 2.5 kg 健康新西兰家兔,由南京安立默科技有限公司提供,动物合格证号: No. 0032009 和 No. 0032013。

1.2 试验方法

1.2.1 菌悬液制备 取各试验菌株接种相关菌株所需营养琼脂培养基平板上,分离出单个菌落,选择典型菌落接种作增菌培养。然后用无菌生理盐水洗脱菌落,分别制成菌液浓度为 $3 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ cfu/ml 的菌悬液,备用。

1.2.2 抑菌环试验 取各试验菌菌悬液 0.1 ml 接种营养琼脂培养基平板上均匀涂抹。取 $\phi 5$ mm 灭菌滤纸片浸湿中药抑菌剂贴于已接种菌悬液的培养基平板上,等距离贴 4 个载药滤纸片,中心贴 1 片不含抑菌剂的滤纸片作为阴性对照。置于 37 °C 培养 18 h,测量抑菌环直径,取平均值^[3]。

1.2.3 最低抑菌浓度(MIC)测定 在无菌试管内分别加入 1 ml 营养肉汤和 1 ml 菌悬液,混匀后取 1 ml 混合样液加入到下 1 管含 1 ml 营养肉汤内,如此梯度进行系列稀释。同时设阳性对照和空白对照,一并置于 37 °C 培养 18 h,观察结果。以无菌生长的最低稀释度作为 MIC 值。

1.2.4 多次皮肤刺激试验 取皮肤正常完好的健康白色豚鼠 6 只,试验前 24 h 背脊部两侧各约 3 cm × 3 cm 备皮。将受试抑菌剂原液均匀涂在一侧脱毛皮区,无刺激性塑料膜覆盖其表面,再以无刺激性胶布和绷带加以固定,另一侧脱毛皮区无处理,作为阴性对照。4 h 后温水洗净残留抑菌剂。每天试验处理一次,连续试验 14 d。在每次试验后 24 h 观察皮肤刺激反应并进行评分。

1.2.5 急性眼刺激试验 取 3 只双眼均正常的新西兰家兔,准确吸取 0.1 ml 受试抑菌剂原液滴入家兔一侧眼结膜囊内,将家兔眼被动闭合 4 s,静置 30 s 后生理盐水冲洗,另一侧眼用生理盐水作试验对照。于滴眼后 1 h、24 h、48 h、72 h、14 d 和 21 d 观察家兔眼结膜、虹膜和角膜的损伤和恢复情况,并用 2% 荧光素钠溶液或裂隙灯、放大镜检查角膜及虹膜变化,按眼刺激反应分级标准判断刺激强度。

2 结果

2.1 抑菌环试验结果

结果表明,3 种中药抑菌剂中,黄柏抑菌剂对金

黄色葡萄球菌抑菌环直径最大,达到 28 mm,蛇床子抑菌剂抑菌环直径最小,为 20 mm;红花抑菌剂对 3 种试验菌的抑菌环直径均大于 13 mm,而黄柏抑菌剂对白色念珠菌无抑菌环(表 1)。

表 1 3 种中药抑菌剂抑菌环试验结果

中药抑菌剂	3 种中药抑菌剂抑菌环直径(mm)		
	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	白色念珠菌
蛇床子抑菌剂	20	15	7
红花抑菌剂	25	17	13
黄柏抑菌剂	28	15	0

2.2 MIC 值测定结果

3 种中药抑菌剂中,红花抑菌剂和黄柏抑菌剂对金黄色葡萄球菌抑菌效果最好,MIC 值均为 0.78;红花抑菌剂对大肠杆菌抑菌效果最好,MIC 值为 3.12;红花抑菌剂对白色念珠菌的 MIC 值为 12.50(表 2)。

表 2 3 种中药抑菌剂 MIC 值测定结果

中药抑菌剂	3 种中药抑菌剂对不同细菌 MIC 值(%)		
	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	白色念珠菌
蛇床子抑菌剂	6.25	6.25	25.00
红花抑菌剂	0.78	3.12	12.50
黄柏抑菌剂	0.78	6.25	>100.00

2.3 多次皮肤刺激试验结果

多次皮肤刺激试验结果显示,3 种中药抑菌剂原液连续对豚鼠完整皮肤涂抹 14 d 后,未见皮肤红斑、水肿等异常反应,其皮肤刺激性指数为 0,对豚鼠皮肤为无刺激性。

2.4 急性眼刺激试验结果

急性眼刺激试验结果显示,3 种中药抑菌剂原液连续对新西兰家兔进行滴眼试验 21 d 之后,未见结膜、虹膜和角膜损伤等异常反应,其眼刺激反应评分为 0,对新西兰家兔结膜、虹膜和角膜为无刺激性。

3 讨论

蛇床子是植物蛇床的果实,为常用中草药^[4],其有效成分为挥发油和多种香豆素衍生物^[5,6],具有抗真菌、抗过敏作用^[7]。红花又名草红花,属传统经典藏药,为一年生草本植物红花的花冠,有研究表明红花对细菌和芽孢具有较好的抑菌作用^[8]。黄柏属于临床上使用较多的一线中药,具有抗菌、抗炎、解热等作用^[9]。

目前,日常生活和临床上常见的主要致病菌为金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和白色念珠菌等。金黄

色葡萄球菌属革兰阳性菌,能引起组织器官脓肿和手术创伤化脓^[10]。大肠杆菌为革兰阴性菌,能导致急性胃肠炎和腹泻症状的发生^[11]。白色念珠菌属真菌类,通过感染人体和在人体内增殖,形成侵袭性真菌感染,导致患者严重感染甚至死亡^[12]。抑菌剂的使用是预防和治疗感染的重要手段之一,而中药抑菌剂因其药源广泛、成分安全、抑菌广谱等优点渐成市场热点。有研究表明,中药红花羊蹄甲种子的活性物质对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌等 6 种病原菌均有抑制作用^[13]。苗药红花龙胆对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌有抑制作用且抑菌效果依次为:大肠杆菌 > 金黄色葡萄球菌^[14]。本研究中,红花抑菌剂对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的 MIC 分别为 0.78 和 3.12,抑菌效果为:金黄色葡萄球菌 > 大肠杆菌。梁志培等研究结果显示:中药黄柏叶 3 种黄酮苷化合物对金黄色葡萄球菌、柠檬色葡萄糖球菌均具有抑制作用,最低抑菌浓度能够达到 0.12 mg/L^[9]。王玉姣等研究发现黄柏对大肠杆菌抑制作用较强^[15],与本研究结果一致。赵锦慧等研究发现蛇床子醇提物对大肠杆菌的抑制作用明显^[16],与本研究结果一致。

本研究结果显示,蛇床子抑菌剂对细菌抑菌效果较好,对真菌的抑菌效果较差;红花抑菌剂对革兰阳性细菌抑菌效果最好,对真菌的抑菌效果最差;黄柏抑菌剂对革兰阳性细菌抑菌效果最好,对真菌的没有抑菌作用。3 种中药抑菌剂对皮肤、结膜、虹膜和角膜均为无刺激性,对人体亲和性良好、无刺激、不致敏、使用安全。红花抑菌剂对细菌和真菌的抑菌效果最好,蛇床子抑菌剂次之,黄柏抑菌剂较差。红花抑菌剂抑菌效果优于蛇床子抑菌剂和黄柏抑菌剂,日常使用上应根据具体情况加以区别选择。

参考文献

- [1] 李敏. 五倍子提取物抑菌效果及稳定性研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2016, 38(3): 48-52.
- [2] 傅瑞春, 左国营, 王根春, 等. 20 种中草药提取物的体外抗菌作用研究[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(5): 1025-1027.
- [3] Valero M, Salmerón MC. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth [J]. *Inter J Food Microbiol*, 2003, 85(1-2): 73-81.
- [4] 王宝剑, 张晶, 苑振亭, 等. 复方蛇床子搽剂治疗体股癣 296 例临床研究[J]. 临床军医杂志, 2017, 45(3): 316-317.
- [5] 朱纓, 谈如蓝, 吴芝园, 等. 山东产蛇床子挥发油化学成分研究[J]. 中国药业, 2016, 25(11): 31-34.
- [6] 马远. 蛇床子的成分、药理及临床应用研究[J]. 中国药物经济学, 2014, 2(2): 234-235.
- [7] 王可, 张晶, 苑振亭, 等. 复方蛇床子软膏治疗亚急性湿疹临床观察[J]. 临床军医杂志, 2016, 44(10): 1084.
- [8] 马家麟, 达洛嘉, 高世宝, 等. 红花超临界提取物的 GC-MS 成分分析及抗菌活性研究[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(4): 172-174.
- [9] 梁志培, 罗小军. 黄柏风湿胶剂的药理学研究[J]. 北方药学, 2017, 14(1): 157.
- [10] 苏润雨, 聂伯尧, 杨百亮. 3 种消毒剂对金黄色葡萄球菌杀菌作用的研究[J]. 天津农学院学报, 2016, 23(3): 51-54.
- [11] 唐晓辉. 细菌及细菌毒素导致家畜中毒的病因分析[J]. 现代畜牧科技, 2017, 29(5): 104.
- [12] 吴晔. 光滑念珠菌和白色念珠菌致病机制研究进展对比[J]. 医药前沿, 2014, 1(1): 146-147.
- [13] 卢勋, 袁素素, 叶秀娟, 等. 红花羊蹄甲种子活性物质提取及其抑菌作用研究[J]. 武夷科学, 2017, 33(1): 101-105.
- [14] 方玉梅, 张家满, 孙爱群, 等. 苗药红花龙胆体外抑菌试验[J]. 北方园艺, 2018, 4(7): 128-132.
- [15] 王玉姣, 刘冰璇, 董佳琦, 等. 怀府胎菊等五种中草药不同组合体外抑菌效果比较[J]. 饲料博览, 2016, 7(10): 26-30.
- [16] 赵锦慧, 张帆, 郭宁, 等. 蛇床子醇提物对大肠杆菌的抑制作用研究[J]. 周口师范学院学报, 2017, 32(2): 102-105.

(收稿日期: 2018-11-05)

【读者·作者·编者】

参考文献加注文献标识码的要求

根据 GB 7714-2015《信息与文献 参考文献著录规则》规定,请作者投稿时按照标准要求,在每条参考文献的文题名或书名后加注文献标识码,标识码外使用[]括出。具体标识代码参照下表:

文献类型	普通图书	会议录	汇编	报纸	期刊	学位论文	报告	标准	专利
标识代码	M	C	G	N	J	D	R	S	P
文献类型	数据库	计算机程序	电子公告	档案	数据集	磁带	磁盘	光盘	联机网络
标识代码	DB	CP	EB	A	DS	MT	DK	CD	OL