

# 中药对专性厌氧菌的抗菌效果

微生物学教研室 吕礼

附属第一医院口腔科 金光盛

**内容提要** 本文报道龙胆草、生地、黄芪、栀子、黄芩、川朴、荆芥、银花、黄柏(川柏)、川芎、夏枯草、板兰根、黄连、紫苑、鱼腥草、紫花地丁、桐皮、连翘、白菊花及水蓊等20种中药的水浸剂及醇浸剂对常见的脆弱类杆菌、多形类杆菌、消化链球菌、韦荣氏球菌及产黑素类杆菌等五种专性厌氧菌的抗菌效果。本文介绍一种能阐明杀菌或抑菌的抗菌作用的药敏方法,较常用的纸片法灵敏、可靠,值得推广使用。

**关键词** 中药/治疗应用; 厌氧细菌; 药用植物; 微生物敏感试验

中药对常见需氧菌及兼性厌氧菌的抗菌作用已屡见报道<sup>[1~3]</sup>,但有关对专性厌氧菌的抗菌作用迄今未见报道。近来随着厌氧培养技术不断提高,厌氧菌在病灶内的检出率越来越高,几乎遍及临床各科。为此,作者进行了中药对专性厌氧菌的药敏试验,供临床治疗时参考,现将初步结果介绍如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 试验用中药** 龙胆草、生地、黄芪、栀子、黄芩、川朴、荆芥、银花、黄柏(川柏)、川芎、夏枯草、板兰根、黄连、紫苑、鱼腥草、紫花地丁、桐皮、连翘、白菊花及水蓊。以上20种药材购自杭州中北药店。

**1.1.2 培养基** 采用厌氧血平板(内含胰蛋白胍、大豆胍、氯化钠、酵母浸膏、维生素K<sub>1</sub>、氯化血红素、L-半胱氨酸、琼脂、羊血及蒸馏水等)。厌氧肉汤(成分同上,但不含琼脂及羊血)、庖肉培养基(含牛肉汤及牛肉渣),以及一系列鉴定细菌用的生化培养基<sup>[4]</sup>。

**1.1.3 菌种** 脆弱类杆菌、多形类杆菌、产黑素类杆菌、消化链球菌及韦荣氏球菌,均由上海医科大学微生物学教研室提供。菌种保存在庖肉培养基中,临用前接种至厌氧血平板上,用生化反应鉴定细菌后再接种于血平板上,37℃培养24~48h,用灭菌生理盐水稀释成10亿个/ml细菌悬液。

**1.1.4 厌氧培养箱** 浙江义乌冷冻机厂产品。

### 1.2 方法

**1.2.1 中药浸剂制备** 醇浸剂:称取每种中药5g,捣碎,置于灭菌三角烧瓶中,每瓶加入95%乙醇25ml,浸泡48h,其上清液即为1:5醇浸剂。水浸剂:分别称取每种中药5g,捣碎,置于灭菌三角烧瓶中,各加入灭菌蒸馏水25ml,校正pH为7.0,经121.3℃高压灭菌15min,其滤液即为1:5水浸剂。

**1.2.2 药敏试验** 先将每种中药的1:5醇浸剂及水浸剂分别用厌氧肉汤稀释成1:50及1:100药液,然后取以上稀释药液各1ml,加入菌液1滴,摇匀后置于厌氧培养箱中以抽气换气法使其成为厌氧环境

(10% H<sub>2</sub>、10% CO<sub>2</sub>、80% N<sub>2</sub>，以钯粒为催化剂)，37℃培养24h后，在每管培养物中取1环接种在厌氧血平板上，作为1 cm<sup>2</sup>的涂抹，厌氧培养48h，记录结果。再将血平板继续培养72h，记录最后结果。在48h培养后无菌落生长，则再予培养72h，如长

出少量菌落，则为抑菌，如仍无菌落生长者，则表明细菌被杀灭。

## 2 结果

20种中药对5种常见专性厌氧菌的作用见表1。

表1 20种中药对口腔中五种常见专性厌氧菌抗菌试验的结果

药名	药 物		菌 名				
	溶 液	浓 度	脆弱类杆菌	多形类杆菌	产黑素类杆菌	消化链球菌	韦荣氏球菌
龙胆草	95%醇浸剂	1:100	4	4	3	4	4
		1:50	4	2	—	4	—
	水浸剂	1:100	4	4	4	4	—
1:50		4	4	4	4	—	
生 地	95%醇浸剂	1:100	4	4	4	4	4
		1:50	4	4	4	4	4
	水浸剂	1:100	4	4	4	4	4
1:50		4	4	4	4	4	
黄 芪	95%醇浸剂	1:100	4	4	4	4	4
		1:50	4	4	4	4	4
	水浸剂	1:100	4	4	4	4	4
1:50		4	4	4	4	4	
栀 子	95%醇浸剂	1:100	4	4	—	4	4
		1:50	4	—	—	4	1
	水浸剂	1:100	4	4	4	4	—
1:50		4	4	4	4	—	
黄 芩	95%醇浸剂	1:100	4	4	1	4	4
		1:50	—	—	—	1	—
	水浸剂	1:100	4	4	4	4	—
1:50		4	4	4	4	—	
川 朴	95%醇浸剂	1:100	—	4	4	— 后1	4
		1:50	—	—	—	—	4
	水浸剂	1:100	4	4	4	4	4
1:50		4	—	4	— 后2	4	
荆 芥	95%醇浸剂	1:100	4	4	3	—	4
		1:50	4	2	—	—	4
	水浸剂	1:100	4	4	4	4	—
1:50		4	4	4	4	—	
银 花	95%醇浸剂	1:100	4	4	4	4	4
		1:50	4	4	4	4	4
	水浸剂	1:100	4	4	4	4	4
1:50		4	4	4	4	4	
黄 柏	95%醇浸剂	1:100	4	4	4	4	4
		1:50	4	4	4	— 后2	4
	水浸剂	1:100	4	4	4	4	4
1:50		4	4	4	4	4	

川 芎	95%醇浸剂	1:100	4	4	4	4	4
	水浸剂	1:50	—	—	—	—	—
夏 枯 草	95%醇浸剂	1:100	4	4	4	3	4
	水浸剂	1:50	4	—	3	1	4
板 兰 根	95%醇浸剂	1:100	4	4	1	1	4
	水浸剂	1:50	2	1	—	—	4
黄 连	95%醇浸剂	1:100	4	4	4	4	4
	水浸剂	1:50	4	4	4	4	4
紫 苑	95%醇浸剂	1:100	4	4	—	1	4
	水浸剂	1:50	—	1	—	1	—
鱼 腥 草	95%醇浸剂	1:100	4	4	—	4	4
	水浸剂	1:50	1	2	—	2	4
紫花地丁	95%醇浸剂	1:100	4	4	3	1	4
	水浸剂	1:50	1	1	2	1	4
桐 皮	95%醇浸剂	1:100	4	4	—	—	4
	水浸剂	1:50	—	—	—	—	—
连 翘	95%醇浸剂	1:100	4	—	1	4	—
	水浸剂	1:50	—	—	—	—	—
白 菊 花	95%醇浸剂	1:100	4	4	1	4	4
	水浸剂	1:50	1	—	—	1	—
水 蓊	95%醇浸剂	1:100	4	4	4	4	4
	水浸剂	1:50	4	4	4	4	4

注 1: 示菌落数为 1~10 个, 2: 示菌落数为 11~20 个, 3: 示菌落数为 21~30 个, 4: 示菌落数数不清, 成一片菌苔, 一后 1: 示培养 48h 无菌落生长, 再培养 72h 生长 1~10 个菌落, 一后 2: 示培养 48h 时 无菌落生长, 再培养 72h 生长 11~20 个菌落数, 一: 示无菌落生长

本试验的中药醇浸剂用 95% 乙醇作对照, 中药水浸剂用灭菌生理盐水对照, 均为强阳性 (4)。

从表 1 可见, 95% 醇浸剂对 5 种专性厌氧菌的抗菌效果较好, 其中 1:50 醇浸剂对 5 种厌氧菌有杀菌或抑菌作用的有黄芩、紫

苑、桐皮、连翘和白菊花；对4种厌氧菌有作用的有紫花地丁、黄连、板兰根、鱼腥草及川朴；对3种厌氧菌有效的有龙胆草、栀子、荆芥及夏枯草；对2种厌氧菌有效的有川芎；对1种厌氧菌有效的有黄柏。在1:50水浸剂中，黄连对5种厌氧菌有杀菌作用；川朴及鱼腥草对2种厌氧菌有作用，其它如龙胆草等10种中药对一种厌氧菌有抗菌作用。

1:100稀释的醇浸剂中药对3种厌氧菌有抗菌作用的仅有桐皮；对2种厌氧菌有效的有黄连和川朴；对一种厌氧菌有效的有栀子等4种中药。1:100水浸剂中仅黄连对2种厌氧菌有效；对一种厌氧菌有抗菌作用的有黄芩等10种中药。

### 3 讨论

**3.1** 在试验前作者作了多次预试 用3种不同方法提取中药，比较其抗菌效果。①用水提取：取药材10g，加蒸馏水100ml，煎煮30min，过滤，将滤液浓缩至5ml，倒入灭菌试管中备用；②乙酸乙酯提取液：取药材10g，捣碎，加乙酸乙酯100ml，回流提取1h，回收药液至剩下5ml，转移至小试管，备用；③乙醇提取液：取药材10g，捣碎，加85%乙醇100ml，水浴加热回流提取约1h，过滤，滤液于旋转蒸发器中回收至5ml，倒入小试管备用。作者将上述三种不同方法的中药提取液对4种厌氧菌作纸片法抑菌试验。结果20种中药的水提取液中仅黄连对脆弱类杆菌及多形类杆菌有抑菌作用，其抑菌圈分别为1.2及1.5cm，其它19种中药水提取液均无效。醇提取液对4种厌氧菌有抑菌圈，其直径分别列入表2。

20种中药的乙酸乙酯提取液对5种厌氧菌的纸片法抑菌试验的结果很不理想，抑菌圈不明显或无抑菌圈。

**3.2** 不同浓度的黄连水浸剂对3种厌氧菌的纸片法抑菌试验的结果见表3。

**3.3** 厌氧菌的药敏试验，多数学者采取平板上贴药物纸片法，但我们用此法作多次试验，

表2 乙醇提取液对4种厌氧菌的抑菌圈直径(cm)

菌名	中药名					对照
	川朴	黄柏	川芎	黄连	白菊花	
脆弱类杆菌	无	0.9	0.7	1.3	无	无
多形类杆菌	无	1.2	0.9	0.8	1.0	无
消化链球菌	0.8	1.1	0.7	2.0	0.8	无
韦荣氏球菌	无	1.5	无	无	无	无

表3 不同浓度的黄连水浸剂对三种菌的抑菌圈(cm)

菌名	黄连水剂稀释度					
	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
脆弱类杆菌	1.0	0.9	0.8	0.7	无	无
消化链球菌	1.9	1.1	0.9	无	无	无
多形类杆菌	1.1	0.9	0.7	无	无	无

每次结果差别较大，此法影响结果的因素亦较多，如每次试验用菌量，纸片上蘸的药量亦可有差别，因此作者采用自行设计的上述方法，结果较为稳定，重复性好。每次实验均重复二次以上，在试验中发现厌氧菌极易被其他需氧菌污染而影响结果。本试验方法结果表明药物的1:50及1:100水剂及醇浸剂对5种厌氧菌具有杀菌及抑菌作用，通常文献报道几乎仅阐明药物的抑菌浓度而未提及杀菌浓度，因此，本文所介绍的方法，特别是对厌氧菌的药敏试验更有实际意义。尽管本研究仅做了20种中药对5种有代表性的厌氧菌的药敏试验，数量较少，但初步可以肯定中药对专性厌氧菌有一定的杀灭或抑菌作用。厌氧菌感染的病死率可达20~46%<sup>[5]</sup>，目前治疗的药物虽有灭滴灵、氯林可霉素及头霉素等<sup>[6]</sup>，但中药抗厌氧菌的研究报道甚少，亟待研究，是一项重要任务。

### 参 考 文 献

1. 山东省人民医院. 实用药物手册. 第1版, 山东科学技术出版社, 1981: 81~120

(下转第234页)

泛证实,但其机理远未阐明。Well等<sup>[10]</sup>用免疫功能健全的CD-1鼠和巨噬细胞功能有先天缺陷的C3H/HeJ鼠,口服抗生素去污染后单联大肠杆菌,形成肠道菌群紊乱的动物模型,以观察细菌移生情况。48h后盲肠中大肠杆菌达 $10^{11}$ /g,检查MLN,4组健全鼠大肠杆菌移生率为100%,4组C3H/HeJ鼠大肠杆菌移生率分别为10%、30%、40%和50%。进一步将鼠去污染后单联有萤光标记的大肠杆菌,2、4、11天后取出肠系膜淋巴结进行单细胞分离,仅在巨噬细胞中发现有萤光标记物。因此他们提出,在肠道细菌移生中巨噬细胞可能起着关键性作用。在肠道粘膜上皮间、固有层和淋巴结中,包括派伊尔氏淋巴集结中,都有肠相关巨噬细胞。他们认为这种巨噬细胞能够吞噬肠道细菌,但在机体T细胞功能减弱的情况下,其杀菌能力减弱,常常只吞噬却不能杀灭,致细菌随游走的巨噬细胞移行到肠外,经淋巴液或血液扩散到机体其他部位,然后从死亡的、将死亡的、或有缺陷的巨噬细胞内释放出来,引起广泛的感染。Maddaus<sup>[3]</sup>的一系列动物实验亦证实,T细胞功能减弱对肠道细菌能否移生到MLN影响很小,但它可使已经移生到MLN的细菌存活率增加,因而易于扩散到体循环及其它脏器。因此,肠道细菌移生不等于内源性感染,只有当机体免疫防御机能受到严重破坏时,移生的细菌才会进一步定植和扩散,造成感染,所以应当将肠道细菌移生看作是感染的潜在来源。

### 参 考 文 献

1. Meakins JL, et al. Arch Surg 1986; 121(2) : 197
  2. Wilmore DW, et al. Surgery 1988; 104(6) : 917
  3. Maddaus MA. Ann Surg 1988; 207(4) : 387
  4. Sori AJ, et al. Am J Surg 1988; 155(2) : 187
  5. Baker JW, et al. J Trauma 1988; 28(7) : 896
  6. Koziol JM, et al. J Trauma 1988; 28(1) : 10
  7. Rush BF, et al. Ann Surg 1988; 207(5) : 549
  8. McCord JM, et al. Gastroenterology 1987; 92(6) : 2026
  9. Smith SM, et al. Gastroenterology 1987; 92(4) : 950
  10. Revhaug A, et al. Arch Surg 1988; 123(2) : 162
  11. Deitch EA, et al. Arch Surg 1987; 122(2) : 185
  12. Maejima K, et al. Infect Immun 1984; 43(1) : 6
  13. Maejima K, et al. Arch Surg 1984; 119(2) : 116
  14. Reitch EA, et al. J Surg Res 1987; 42(5) : 536
  15. Soub WW, et al. TPEN 1985; 9(1) : 18
  16. Hwang TL, et al. Surg Forum 1986; 37 : 56
  17. Tacobs DO, et al. TPEN 1988; 12, 1 (Suppl) : 6
  18. Deitch EA, et al. Arch Surg 1987; 122(9) : 1019
  19. Wells CL, et al. Arch Surg 1987; 122(2) : 48
- (1989年12月11日收稿,1990年5月14日修回)

(上接第223页)

2. 王兰田. 等. 药物分析杂志 1987; 7(2) : 114
3. 浙江省建德县新医疗法中草药研究推广组, 等. 中草药制剂(研究动态及临床成果选编) 1971; 100~115
4. 陈聪敏. 厌氧菌感染及其微生物学检查法 上海第一

医学院师资进修教材 1981 : 55~64

5. 金光盛. 浙江医科大学学报 1986; 14(3) : 137
  6. Finegold S M, et al. Anaerobic Infections: Etiology, Diagnosis, and Treatment. California: Los Anieles, 1983 : 48
- (1989年11月6日收稿,1990年3月20日修回)