

中药对牙龈卟啉单胞菌抗菌活性的实验研究

刘文芳, 刘宪, 聂中越(暨南大学第二临床医学院, 深圳市人民医院, 广东 深圳 518020)

摘要:目的 探讨和筛选中草药组方对牙龈卟啉单胞菌的抗菌活性,以验证其相关功效。方法 采用厌氧菌药物敏感试验琼脂稀释法测定实验检品的 MIC。结果 实验表明,凡组方中含小檗碱、黄芩素、大黄酸、厚朴酚等有效成分的中药材,其抗菌作用最强。结论 结果表明,具有抗菌有效成分的中草药活性成分,与其相关的临床功效及主治相符,为其临床治疗种植体周围炎提供了一定的实验依据。

关键词: 中药; 牙龈卟啉单胞菌; 抗菌活性

中图分类号: R781.490.0531 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-7693(2005)08-0701-02

种植体周围炎的发病机制类似于牙周炎,属非特异性炎症,其种植体周围菌群与牙周炎的龈下菌群比较相似,其中牙龈卟啉菌已被公认为是牙周炎症的主要致病菌。本研究采用传统的中药材,按中药药理和理法方药进行配伍^[1],对牙龈卟啉单胞菌的抗菌活性进行测定,以验证该中药制剂的抗菌功效。

1 实验材料

1.1 药物

本中草药制剂分为 15 组方号,均按醇提水沉法分别进行提取浓缩^[2],使其每毫升含 0.5g 原药材的药汁,过滤除菌,4℃ 保存。

基金项目:深圳市卫生科技计划项目,项目编号:2004029

1.2 菌株

牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, P. gingivalis)3 株;模式株 ATCC33277 和参考株 W83、47A-1。

1.3 培养基

BHI-S 琼脂和 BHI-S 液体(Difco)

2 实验方法

采用美国国立实验室标准化委员会(National Committee for Clinical Laboratory Standards Nects)推荐的厌氧菌药物敏感试验(Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobes)琼脂稀释法(Agar Dilution Method)^[3]测定实验检品的 MIC。

2.1 药液的准备

采用对倍稀释法^[4],用 BHI-S 液体将 15 个检品分别配成 1/1(原液)、1/2、1/4、1/8 共 4 个实验药液浓度。

2.2 含药平皿的准备

按照 1mL 实验药液加 9mLBHI-S 琼脂混合后倾注平皿的方法,配制实验药液浓度为 1/10、1/20、1/40、1/80 的系列含药平皿。

2.3 菌液的配制

用 BHI-S 液体将实验菌配成菌液浊度为 10^8 CFU/mL (0.5 McFarland 标准)和 10^7 CFU/mL 的实验菌液备用。

2.4 MIC 和 MBC 测定

在系列含药平皿表面分别点种细菌浊度为 10^8 CFU/mL (0.5 McFarland 标准)和 10^7 CFU/mL 的实验菌液,点种量为 5 μ L。在厌氧条件(80% N₂ + 10% CO₂ + 10% H₂)培养 48h。实验菌对照:将实验菌液点种在不含药液的 BHI-S 琼脂表面。

3 结果

琼脂稀释法测定实验检品的抗菌活性结果见表 1。

15 种组方中草药制剂对牙周主要病原菌牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, *P. gingivalis*)的 3 株实验菌:模式株 ATCC33277 和参考株 W83、47A-1 的抗菌活性结果表明:组方 1、组方 2、组方 3、组方 4、组方 12、组方 14 等 6 种制剂对 3 株实验菌抗菌作用最强,其 MIC 均 \leq 制剂原浓度的 1/80;组方 11 对 3 株实验菌的抗菌活性次之,其 MIC 为制剂原浓度的 1/40 或 \leq 制剂原浓度的 1/80;组方 13 对 ATCC33277 和 W83、47A-1 等 3 株实验菌也有一定的抗菌作用,其 MIC 分别为制剂原浓度的 1/20、1/40 和 1/20;其它组方中药制剂对 3 株实验菌的抗菌作用则较差,其 MIC \geq 制剂原浓度的 1/10 或为制剂原浓度的 1/20。本实验选择两种实验菌细菌浓度: 10^8 CFU/mL 和 10^7 CFU/mL,结果显示这两种实验菌细菌浓度对 MIC 值影响不太。

4 讨论

实验表明,本文所选择的中草药对厌氧菌牙龈卟啉单胞菌有抑菌或杀菌作用,主要是中草药中的有效成分小檗碱、黄芩素、大黄酸以及厚朴酚的效果最佳。其量效关系,值得关注^[5]。而对各组方药有效成分及作用机制的探讨,则有待于进一步深入研究。

表 1 实验检品对 *P. gingivalis* 的 MIC

药品编号	ATCC33277		W83		47A-I	
	10^7 CFU/mL	10^8 CFU/mL	10^7 CFU/mL	10^8 CFU/mL	10^7 CFU/mL	10^8 CFU/mL
组方 1	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$
组方 2	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$
组方 3	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$
组方 4	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$
组方 5	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10
组方 6	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$
组方 7	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$
组方 8	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$	1/10	$\geq 1/10$
组方 9	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$	1/20	1/10
组方 10	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$	1/20	$\geq 1/10$	$\leq 1/20$	1/20
组方 11	$\leq 1/80$	1/40	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$
组方 12	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$
组方 13	$\leq 1/20$	1/20	1/40	1/40	1/40	1/20
组方 14	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$	$\leq 1/80$
组方 15	$\geq 1/10$	$\geq 1/10$	1/10	$\geq 1/10$	1/20	1/10
实验菌对照	+	+	+	+	+	+

注:MIC 值通常用 mg/L 表示,可将释度换算成各种制剂的实际浓度(mg/L)。+:表示在对照平皿上。

参考文献

- [1] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1993:305.
- [2] 董方言. 现代实用中药新剂型新技术[M]. 北京:人民卫生出版社, 2001:52.
- [3] Vandepitte J, Engbaek K, Piot P, et al. 临床细菌学基础实验室程序[M]. 王登先, 白念峰, 史旭波, 等译. 第 1 版. 北京:人民卫生出版社, 1997:1647.
- [4] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 第 1 版. 北京:人民卫生出版社, 1982:1647.
- [5] 王少虎, 樊明文, 边青. 中草药抗致龋菌的实验研究[J]. 中华口腔医学杂志, 2001, 36(5):385.

收稿日期:2004-04-14