

大承气汤对大肠杆菌体外抑菌作用的研究

陈丽萍¹ 陈岩² 董艳³

(1 黑龙江省牡丹江市第一人民医院检验科,牡丹江,157009; 2 黑龙江省医院感染内科,牡丹江,150036;

3 牡丹江医学院微生物免疫教研室,牡丹江,157011)

摘要 目的:研究大承气汤对大肠杆菌的体外抑菌作用,以探讨中药大承气汤的临床应用价值。方法:将大肠杆菌涂布于培养基表面培养,然后加大承气汤,同时以头孢拉啶作为阴性对照,记录抑菌圈直径,比较两组药物的应用对大肠杆菌体外抑菌的作用。结果:大承气汤对大肠杆菌有一定的抑菌作用,抑菌圈直径高达 13.9 mm,为中度敏感;先锋霉素 6 号对大肠杆菌的抑菌作用非常强,抑菌圈直径高达 19.1 mm,为高度敏感。结论:大承气汤对大肠杆菌有良好的体外抑菌作用,可加强进一步临床研究,应用于临床轻度大肠杆菌感染者的治疗。

关键词 大承气汤;大肠杆菌;抑菌作用

Studies on the Effect of Dahuang Chengqi Decoction on the Antibacterial Effect of Escherichia Coli in Vitro

Chen Liping¹, Chen Yan², Dong Yan³

(1 First People's Hospital in Mudanjiang City of Heilongjiang Province, Mudanjiang 157009, China; 2 Heilongjiang provincial hospital infection internal medicine, Mudanjiang 150036, China; 3 Section of Microbial Immune Mudanjiang Medical College, Mudanjiang 157011, China)

Abstract Objective: To study the effect of Dahuang Chengqi Decoction on escherichia coli in vitro in order to explore clinical application value of Dahuang Chengqi Decoction. **Methods:** Coat escherichia coli in medium surface culture and add Dahuang Chengqi Decoction. Take both spore and chemoprotective as negative control, record bacteriostatic circle diameter, compare two groups of drug application on escherichia coli in vitro antibacterial effect. **Results:** Dahuang Chengqi decoction has a certain effect on escherichia coli, bacteriostatic circle diameter went up to 13.9mm which is considered moderately sensitive; Cephalosporin #6 has a strong effect on the antibacterial effect of escherichia coli, bacteriostatic circle diameter went up to 19.1mm, which is highly sensitive. **Conclusion:** Dahuang Chengqi decoction has good antibacterial effect on escherichia coli in vitro. Further clinical studies can be carried out to apply the decoction to the clinical treatment of mild escherichia coli infections.

Key Words Dahuang Chengqi decoction; Escherichia coli; Antibacterial effect

doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2013.10.033

我国中药物种资源丰富,中药用于抗菌已有悠久的历史。大承气汤,中药方剂,出自名著《伤寒论》,主治阳邪入里,荡涤肠胃实热燥结积滞^[1],是由大黄、朴硝、枳实、厚朴组成。经过多年的医学临床和实验研究证明,大承气汤对感染性疾病具有良好的治疗效果。西药抗感染是通过药物与病原菌之间的相互作用而发挥作用的,而中药抗感染则是通过调节患者整个机体的功能状态而实现抵抗消灭病原菌作用的。笔者以大肠杆菌为例,以西药作为对照组,开展大承气汤对大肠杆菌体外抑制作用的实验研究。在大肠杆菌培养基中加入大承气汤,观察其体外的抑菌作用,为以后临床治疗大肠杆菌腹腔感染提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 培养基;琼脂;生理盐水;超净工作台;低速离心机;蒸汽灭菌器;显微镜;恒温水浴。

1.2 大肠杆菌 大肠杆菌由我院临床病料分离,选用医学临床标本中常见和致病需氧菌。一般是从脓性胆囊炎、化脓性阑尾炎和腹膜炎等患者的脓液中培养出

来,经肉汤管增菌,血平皿分离,然后经 VITEK 全自动细菌分析仪鉴定,从众多的菌类中选择大肠杆菌来作为研究的对象。菌液的制备:将分离出来的大肠杆菌,用接种环挑取适量接种至普通培养基中,加灭菌生理盐水稀释至约 10⁸ 个/mL 含菌量,使大肠杆菌悬浮于生理盐水中,并对其进行充分震荡混匀后,用 VIKI COLOR/METER 比浊。

1.3 大承气汤 由我院药物制剂室提供,其组成为大黄、朴硝、枳实和厚朴。用十倍药材体积的水,先浸泡 30 min,再煎煮 30 min,滤出药液,再加水浸没药材 3 ~ 4 cm,煎煮 30 min,滤出药液,然后再加水浸没药材 1 ~ 1.5 cm,煎煮 20 min,滤出药液,3 次滤液合并一起,常压蒸发,浓缩至原药材质量与煎液体积比为 1:1,再进行消毒灭菌,置于 4 ℃ 冰箱中保存,备用。采用流通灭菌保存备用成汤剂。先锋霉素 6 号(头孢拉啶):由杭州百思生特技术有限公司生产,把先锋霉素配制成 0.6 mg/mL 的浓度以备用。

1.4 抑制试验 取大肠杆菌做 8 皿,取其抑菌环直径

的平均值。大肠杆菌的测定:采用平面皿,将实验大肠杆菌液用无菌棉棒均匀地涂布在整个培养基表面,反复持续3次,在每次菌液涂布过程中都要将平面皿旋转60°最后才能沿平面皿周围绕两圈,保证能使菌液均匀地涂布在培养基表面。但在制作过程一定要注意制备的菌液必须要在15 min内使用。采用平面皿的尺寸规格为厚4 mm、直径70 mm(由青岛科宇生物工程有限责任公司制造)。然后用打孔器在平面皿上均匀打6个孔,孔的直径大约6 mm,孔之间的间距不少于20 mm,且孔中距离平面皿的距离不得小于10 mm。孔打好之后,然后在每个孔内加入50 μL大承气汤药液。对照组操作同上,但每个孔内加入头孢拉定溶液。将板放置于37℃恒温箱中,待其培养24~48 h后观察抑菌结果。

1.5 抑菌效果判定标准 使用游标卡尺来测量各药物的抑菌环直径。当抑菌直径>20 mm的就称之为极度敏感;处于15~20 mm范围内的记作高度敏感;处于10~15 mm范围内的记作中度敏感;抑菌圈直径<10 mm记为低度敏感;无抑菌圈的记作耐药。

2 结果

本组试验得出:大承气汤对大肠杆菌有一定的抑菌作用,为中度敏感;先锋霉素6号对大肠杆菌的抑菌作用非常强,抑菌圈直径高达19.1 mm,为高度敏感。具体见表1所示。

表1 不同药对大肠杆菌体外的抑菌作用(抑菌直径 mm)

菌种	抑菌圈直径	敏感性
大承气汤	13.9	中度敏感
先锋霉素6号	19.1	高度敏感

3 讨论

目前我国中药资源已超过上万个种类,经鉴定并已有命名的中药约8 000多种,常用中药多达500余种,包括植物、动物、矿物用药,大多数中药为植物用药^[2]。随着国家对中药发展的大力支持与鼓励,我国中药开发方面的研究越来越多,并取得了丰硕的成果。近些年来,随着中药临床应用优势的显现,如中药的不良反应通常比西药要小一些,中药讲究的是从根本上治疗疾病,调养患者的身体等方面。世界其他国家也开展了对中药的研究开发^[3],如美国等重点研究的是肿瘤、心血管、神经系统、艾滋病等药物治疗方法,亚洲其他国家还有关于消化系统、抗感染药物等方面的研究。“中草药”这一名称也逐渐被“天然药物”所取代,中药不再局限于中国,它已成为全球热门的研究课题,包括中草药复方给药的各项有效成分的研究,安全性

研究,药理学与毒理学研究等^[4]。

大承气汤由由大黄、朴硝、枳实、厚朴组成,大黄主泻热通便,峻下热结,急下存阴,荡涤燥结,清热解毒,活血祛瘀,为君药;芒硝主治泻热通便,软坚润燥,为臣药;厚朴有下气除满之功效,为佐药;枳实有行气消痞之功效,为佐药。各药配伍,可增强泻下热结,使胃肠气机通降下行之功效。临床常用于急性肠梗阻,幽门梗阻,胆囊炎,胰腺炎或某些热性病所致的高热、意识模糊、惊厥、发狂、大便不通者。该汤药燥症不甚、气虚阴亏、年老体弱、孕妇不宜使用,病情好转后应及时停药,以免过量使用损耗正气。现代研究显示,大承气汤具有促进胃肠道消化功能,还有一定的抗菌、抗炎、抗内毒素的作用^[5]。

大肠杆菌是一种存在于人和动物肠道的细菌,属于革兰氏阴性杆菌,寄居在大肠中,占肠道菌的1%。大肠杆菌帮助合成Vit B和Vit K,能发酵糖类产酸产气,其代谢活动可以抑制肠道中分解的蛋白质及其微生物的生长,保护机体不受蛋白质分解物的危害,另外,大肠杆菌素还有杀菌作用。正常条件下,人体大肠杆菌不致病,但大肠杆菌一旦进入胆囊及膀胱等处可引发炎症反应,在特定条件下,大肠杆菌还可能引起肠道感染,进而导致腹泻。

凡是肠道内有大肠杆菌的,都可能发生大肠杆菌感染,包括人,家畜禽类。目前,大肠杆菌数常被作为饮水、食品、药品的卫生学标准。国家规定,饮用水中大肠杆菌数不应超过3个/L。也有一些报道称,人与人之间的密切接触也可能传播大肠杆菌。其中食物传播占70%以上,而且可以造成交叉感染,可见大肠杆菌感染的危害极大,尤其是婴幼儿感染大肠杆菌,可能严重危害其健康,因此,寻找有效的抑制大肠杆菌的治疗药物是我们医务工作者面临的重要课题。

化学类抗菌药物具有高效抑菌杀菌的特征,目前广泛应用于临床抗感染治疗,给患者带来了极大的帮助。近些年来,人们发现抗菌药物的应用存在极大的弊端,滥用、乱用、不规范应用抗菌药的现象十分严重,这一现象导致的结果就是耐药菌甚至多重耐药菌的产生,这已成为人类健康新的威胁。中药抗菌治疗细菌耐药情况的发生机率非常小,而且中药治疗存在不良反应小、毒性小、无后遗效应等优势。中药在抗感染治疗方面已有多年的临床经验。根据有关研究发现,大部分寒下药物具有较好的体外抗菌作用^[6]。而在这些药物中,大黄的体外抗菌效果最为明显,据有关报道称,大黄中的蒽醌衍生物是抗菌的主要有效成分,尤其以大黄酸、大黄素和芦荟大黄素作用最为显著。大黄

中的蒽醌衍生物的抗菌作用与其本身的化学结构有着密切的联系。姬志伟^[7]等研究发现,大黄对大肠杆菌有明显的抑制作用。而郑超等^[8]人研究指出,单药组方大黄对大肠杆菌的抑制作用并不明显,而组方用药中配伍大黄,能起到较好的大肠杆菌抑制作用。笔者分析原因可能是因为所使用的药物的来源与质量、制备工艺、药物浓度、大肠杆菌的来源及实验条件等因素而导致的的结果上的差异。

本文进行了大承气汤对大肠杆菌的体外抑制实验研究,并以抗生素类西药作为对照组,观察了两组药物对大肠杆菌的抑制效果,实验结果中,先锋霉素 6 号对大肠杆菌的抑菌作用非常强,抑菌圈直径高达 19.1 mm,表现为高度敏感。大承气汤对大肠杆菌的抑制作用也较为明显,抑菌圈直径稍小于先锋霉素 6 号,为中度敏感。该实验结果说明,大承气汤具有较好的大肠杆菌抑制作用,但与抗生素类药物相比,中药大承气汤的抑菌作用相对要缓慢一些,不及先锋霉素 6 号强效、速效。

综上所述,大承气汤对体外大肠杆菌具有良好的

体外抑菌作用,值得进一步深入研究,应用至临床。

参考文献

- [1] 谭复成,朱烈彬. 大黄的不同炮制与药效关系探讨[J]. 中华中西医杂志,2006,4(3):60-63.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 2010 年版. 北京:化学工业出版社,2010:17-18.
- [3] 王晓晖,刘亭岐,陈波,等. 14 种中药及其组方对临床常见致病菌的抑菌作用[J]. 畜牧与兽医,2009,41(8):74-76.
- [4] 刘荣欣,鲁改儒,郭吉勇,等. 中药及其组方对大肠杆菌的体外抑菌试验[J]. 安徽农业科学,2011,39(4):2265-2267.
- [5] Sokkar SM, Darwiesh G, Madboly A. Study of the pathological effect of Escherichia coli endotoxin in rams[J]. J Vet Med,2008,50(5):226-230.
- [6] 常明向,章晶,陈科力. 黄连、赤芍及大黄对大肠杆菌内毒素释放的影响[J]. 中成药,2007,29(5):752-753.
- [7] 姬志伟,罗连城,解基良,等. 大承气冲剂和大黄的体外抑菌作用[J]. 中国中西医结合外科,2003,9(6):451-453.
- [8] 陈超,郑成中. 致病性大肠杆菌胃肠感染小鼠模型血浆 Th1、Th2、Th17 淋巴细胞因子变化及意义[J]. 中国医药导报,2013,10(19):37-39.

(2013-03-31 收稿)

(上接第 1224 页)

所不同,或可能是脾虚证中的一个特殊类型。目前中医有关脾虚(气虚)发热机制有各种不同的认识^[15],提示同一脾虚发热证在内涵上存在一定的异质性。而本次研究中的脾虚发热模型是基于“虚邪致热”机制及将 LPS 作为一种六淫因素的考虑而设计的^[3],该模型大鼠所伴有中枢-免疫系统变化可能反映了某种脾虚发热类型的状态。

实验观察到,各给药组大鼠体温均呈不同程度降低,下丘脑 PGE₂/AVP 分别呈降低/升高趋势,提示其降温与调节中枢体温正负调质的含量有关。实验中的大剂量柴胡组和芪柴小剂量组的体温下降幅度较为明显,同时伴有下丘脑 IL-1 β 含量明显降低,表明此二组的降温作用还涉及到对下丘脑 IL-1 β 的下调,提示其退热作用涉及到中枢的多个环节。

之前的研究表明大剂量黄芪对该模型具有明显的退热作用^[2],本次观察到单味大剂柴胡对该模型也有较好的退热效应,而黄芪与小剂量柴胡配伍较之于与大、中剂量配伍的作用更好,表明方药配伍后的效用不是药物作用的简单相加。柴胡没有健脾益气作用,但对该模型也有良好的退热作用,提示中医药-证对应关系是相对的。但就对脾虚发热证的整体效应评估来说,柴胡是否还对该证中脾虚相关指标也有改善作用,值得进一步研究。

参考文献

- [1] 张林,谢鸣. 中药多向功效在方剂中选择性作用[J]. 湖南中医学院学报,2004,24(S1):37-38.
- [2] 高秀兰,赵荣华,谢鸣,等. 不同剂量黄芪对脾虚发热大鼠模型作用的观察[J]. 中药药理与临床,2013,29(2):111-113.
- [3] 刘进娜,谢鸣,高秀兰,等. 脾虚发热证大鼠模型的研究[J]. 中国中医基础医学杂志,2012,18(2):150-153.
- [4] 何维. 医学免疫学[M]. 北京:人民卫生出版社,2005,1:416.
- [5] 王琳,焦红军. 发热机制的研究进展[J]. 中医研究,2000,13(2):57-59.
- [6] 曹志友. 下丘脑 TRPV1 在 LPS 致大鼠发热过程中对体温及脑内 AVP 含量、[Ca²⁺]_i 的影响[D]. 沈阳:中国医科大学,2010.
- [7] 黄启福. 病理学[M]. 北京:科学出版社,2007:127-131.
- [8] Lisa R L. Cytokine regulation of fever. studies using gene knockout mice[J]. Journal of Applied Physiology,2002,92(6):2648-2655.
- [9] 黄涛,孟立,沈字玲等. 长时间运动对正常大鼠体温和 LPS 发热反应的影响与 IL-6 的关系[J]. 成都医学院学报,2008,3(1):16-19.
- [10] 唐晓峰,薛漫清,王晖. 大鼠发热模型及发热机制的研究进展[J]. 广东药学院学报,2009,25(3):327-330.
- [11] CONTIB, TABAREAN I, ANDREIC, et al. Cytokines fever[J]. Front Biosci,2004,9:1433-1449.
- [12] 田文静. 柴胡透邪退热功用与其用量、配伍及机体状态关系研究[D]. 北京中医药大学,2010.
- [13] STEINER A A, IVANOV A I, SERRATS J, et al. Cellular and molecular bases of the initiation of fever[J]. PLoS Biology,2006,4(9):284-293.
- [14] 王洪海,谢鸣. 复合病因造模法致脾虚证大鼠模型在免疫系统方面的变化[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(12):41-45.
- [15] 陈丹云,罗道珊. 李东垣“气虚发热”的病机探讨[J]. 中医药学刊,2004,22(12):2312.

(2013-04-22 收稿)