

复方紫草油体外抑菌实验研究

张历元¹ 李元文² 迟 庆³ 王 玲⁴ 肖 飞⁴

(1 北京中医药大学, 北京, 100027; 2 北京中医药大学皮肤病研究所, 北京, 100027; 3 大连大学医学院病原微生物实验室, 大连, 116622; 4 健民集团儿童药物研究院, 武汉, 430052)

摘要 目的: 研究复方紫草油主要成分及成药的体外抑菌作用特点。方法: 利用平板打孔法、牛津杯法和菌落计数法研究 1) 紫草、白芷、忍冬藤水煎液及不同浓度醇提液对金黄色葡萄球菌的抑制能力; 2) 紫草、白芷的 95% 乙醇浸泡液及忍冬藤水煎液对创面常见感染菌种和益生菌的抑制作用; 3) 含 50% 复方紫草油的复方紫草油-乳化剂混合物对创面常见感染菌种和益生菌的抑制作用。结果: 复方紫草油的抑菌特点与紫草醇提物抑菌特点基本一致, 对白色念珠菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌等常见感染致病菌的 ATCC 菌株均有较好抑制作用, 同时也对益生菌有一定抑制作用, 对大肠埃希菌无效。结论: 复方紫草油抑菌谱不等于各组分抑菌谱的简单叠加。根据该药抑菌特点, 可以考虑用于烧烫伤、特应性皮炎等病的创面护理。

关键词 紫草; 金黄色葡萄球菌; 表皮葡萄球菌; 抑菌特点; 细菌培养; 平板打孔法; 复方紫草油; 乳化剂

Experimental Study on Antibacterial Activity of Compound Radix Lithospermi Oil in Vitro

Zhang Liyuan¹, Li Yuanwen², Chi Qing³, Wang Ling⁴, Xiao Fei⁴

(1 Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100027, China; 2 Institute of Dermatology, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100027, China; 3 Laboratory of Pathogenic Microorganisms, Dalian University School of Medicine, Dalian 116622, China; 4 Jianmin Group Children's Pharmaceutical Research Institute, Wuhan 430053, China)

Abstract Objective: To study the characteristics of antibacterial activity in vitro of the main components and compound medicines of compound Radix Lithospermi oil. **Methods:** The plate punching method, oxford cup method and colony counting method were used to study 1) the inhibitory ability of Radix Lithospermi, Radix Angelicae Dahuricae, Caulis Lonicerae Decoction and different concentrations of alcohol extract on staphylococcus aureus; 2) inhibition of common infectious strains and probiotics on wounds by 95% ethanol soaking solution of Radix Lithospermi and Radix Angelicae Dahuricae; 3) inhibition of common infectious strains and probiotics on wounds by compound Radix Lithospermi oil-emulsifier mixture containing 50% compound Radix Lithospermi oil. **Results:** The antibacterial characteristics of compound Radix Lithospermi oil were basically consistent with the antibacterial characteristics of licorice extract, and the ATCC strains of common pathogens such as candida albicans, pseudomonas aeruginosa, staphylococcus aureus, staphylococcus epidermidis had good inhibitory effect, but also had a certain inhibitory effect on probiotics, and was ineffective against Escherichia coli. **Conclusion:** The antibacterial spectrum of compound Radix Lithospermi oil is not equal to the simple superposition of the antibacterial spectrum of each component. According to the antibacterial characteristics of this medicine, wound care for burns, atopic dermatitis and other diseases can be considered.

Key Words Radix Lithospermi; Staphylococcus aureus; Staphylococcus epidermidis; Bacteriostatic characteristics; Bacterial culture; Plate punching method; Compound Radix Lithospermi oil; Emulsifier

中图分类号: R285.5 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2019.05.015

紫草属皮肤科要药, 临床上紫草油被广泛用于各类血热蕴毒型皮肤创面。我国存在多种紫草制剂, 其中复方紫草油(国药准字 Z20044385)为目前唯一的国药准字紫草油之制剂, 临床多用于烧烫伤、尿布皮炎等病。该药以麻油为基质, 主要组成包括紫草、白芷、忍冬藤、冰片。以上组分中, 冰片的抑菌作用研究相对完备, 体外抑菌实验证实, 冰片对变形杆菌、金黄色葡萄球菌等均具有较好的抑制效果^[1],

但冰片在复方紫草油中浓度不超过 2.5%, 目前尚缺乏对其余三味主要成分的抑菌特点研究。另外, 因复方紫草油属油剂, 与抑菌实验中菌平板的水相基质相斥, 用常规直接打孔法无法体现抑菌结果, 目前复方紫草油的抑菌特点尚未研明。本研究旨在探索复方紫草油各组分及复方紫草油成药对金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、白色念珠菌等常见皮肤创面感染致病菌的抑菌作用和特点, 为该药在特应性皮

基金项目: 北京中医药大学横向科研项目(HX201706)——复方紫草油治疗慢性湿疹(血虚风燥证)的临床及动物实验研究

作者简介: 张历元(1993.06—), 女, 博士研究生在读, 研究方向: 皮肤性病, E-mail: 1152322679@qq.com

通信作者: 肖飞(1977.11—), 男, 本科, 高级工程师, 研究方向: 新药临床研究和产品二次开发研究, E-mail: xfsrxbyws@163.com

炎、烧伤等创面的护理应用提供实验室依据。

1 成分单药对金黄色葡萄球菌抑菌实验

1.1 材料

1.1.1 微生物 金黄色葡萄球菌 ATCC29213 菌种纯培养物;培养基按照常规方法制作。

1.1.2 药物 紫草、白芷、忍冬藤饮片制成的 100 目细粉(健民药业提供)。

1.1.3 试剂与仪器 乙醇(95%、75%、50%、25%、15% V/V 浓度),蒸馏水,生理盐水,营养琼脂培养基(北京奥博星生物技术有限公司,批号 20170412),琼脂粉(北京奥博星生物技术有限公司,批号 20180106)。索式回流提取装置(杭州聚同 JTXT-250S)、循环水式多用真空泵(郑州长城 SHB-III)、旋转蒸发仪(郑州长城 R-1001-VN)、一次性塑料平板(预灭菌),不锈钢涂布棒,接种环,打孔器,微量移液器(5~10 μL),托盘天平,量筒,游标卡尺等。

1.2 方法

1.2.1 药液制备 按流程制备紫草、白芷、忍冬藤不同浓度醇提液及水煎液,具体方法如下:1)乙醇回流提取法:分别取紫草、白芷、忍冬藤粉剂 25 g,以 8 倍量 95% 乙醇浸泡 30 min 后,75 ℃ 加热回流提取 1 h,滤过;在剩余药粉中加入 6 倍量 95% 乙醇继续回流 1 h,滤过。合并两次回流提取后所得滤液,以旋转蒸发仪缓慢回收乙醇,剩余液体加入蒸馏水稀释至 8 倍量(每毫升含药量相当于生药 0.125 g),进行封装。依照上述方法,将乙醇浓度分别置换为 75%、50%、25%、15%,并取得相应的药液。2)乙醇浸泡提取法:分别取紫草、白芷、忍冬藤粉剂 25 g,加入 8 倍量 95% 乙醇浸泡 48 h 后,滤过,弃去剩余药粉,以旋转蒸发仪缓慢回收乙醇,剩余液体加入蒸馏水稀释至 8 倍量(每毫升含药量相当于生药 0.125 g),进行封装。3)水煎提取法:分别取紫草、白芷、忍冬藤粉剂 25 g,加入 8 倍量蒸馏水浸泡 30 min 后,煎煮 1 h,静置降温沉淀后滤过封装(每毫升含药量相当于生药 0.125 g)。完成上述全部流程,即制得 21 种不同药液,分别标记并放入 4 ℃ 冰箱保存备用。

1.2.2 平板打孔法抑菌实验 取妥善保藏的金黄色葡萄球菌菌种,37 ℃ 无菌条件下培养 18~24 h,

得指数生长期菌样本,4 ℃ 冰箱保存。在小试管中倒入 2 mL 生理盐水,将接种环灭菌后,取一定量菌样本与生理盐水配成 108 cfu/mL 菌悬液。调制灭菌培养基并倒入一次性塑料培养皿中,每培养皿 10 mL,紫外照射冷却后,使用微量移液器将 100 μL 菌悬液加入平板,涂布均匀。用外径为(5.52 ± 0.31) mm 的打孔器(预灭菌)对菌平板进行打孔,每板 4 孔。孔间距不少于 25 mm,孔中心距皿边缘不少于 15 mm。取一种药液,在菌平板的 3 个孔中分别加入 50 μL 药液,剩余 1 孔中加 50 μL 无菌生理盐水做为对照。37 ℃ 恒温培育 24 h。选择均匀而完全无菌生长的抑菌环,以游标卡尺测量抑菌圈直径。计算平均值。

1.3 结果 药液经培养基中的琼脂扩散自然形成不同浓度梯度,可以凭抑菌环的大小显示不同药液的抑菌作用强弱。在相同质量药物的提取物中,紫草回流提取时使用的乙醇浓度与相应提取物的抑菌效果呈正相关,说明紫草主要抑菌成分在有机相中的溶解度高于水相;而紫草水煎提取物抑菌能力优于 15% 乙醇回流提取物,提示紫草水煎液中抑菌有效成分或与醇提液中抑菌有效成分不同。不同提取方法所得白芷提取物间抑菌效果差异不显著,说明白芷抑菌成分在有机相和水相的溶解度接近,对热的稳定性较好。忍冬藤回流提取时使用的乙醇浓度与其相应提取物抑菌效果呈负相关,使用 95% 乙醇浸泡法及水煎法所获提取物抑菌效果均显著优于 95% 乙醇加热回流法提取物,说明抑菌成分在水相中的溶解度高于有机相,长时间受热易分解。见表 1、图 1。

2 成分单药抑菌特点实验

2.1 材料

2.1.1 微生物 金黄色葡萄球菌 ATCC29213、表皮葡萄球菌 ATCC12228、变形杆菌 ATCC6896、乙型副伤寒沙门菌 CMCC50094、嗜麦芽窄食单胞菌 ATCC17666、腐生葡萄球菌 ATCC43867、福氏志贺菌 ATCC15922、白色念珠菌 ATCC90029、铜绿假单胞菌 ATCC27853、鲍曼不动杆菌 ATCC19606、大肠埃希菌 ATCC35218、肺炎克雷伯菌 ATCC13883、产气肠杆菌 CMCC45103、枯草芽孢杆菌 ATCC6633。

表 1 金色葡萄球菌抑菌结果($\bar{x} \pm s$, mm)

样品	95% 乙醇回流	75% 乙醇回流	50% 乙醇回流	25% 乙醇回流	15% 乙醇回流	95% 乙醇浸泡	水煎煮
紫草	9.38 ± 0.88	8.55 ± 0.69	7.62 ± 1.17	6.63 ± 1.54	4.22 ± 1.20	9.61 ± 0.75	7.67 ± 0.41
白芷	7.94 ± 1.25	6.78 ± 0.21	8.81 ± 0.42	6.94 ± 0.26	6.77 ± 0.13	7.50 ± 0.59	7.05 ± 0.16
忍冬藤	3.67 ± 0.42	4.48 ± 0.57	4.62 ± 1.37	6.28 ± 0.22	6.20 ± 0.71	8.05 ± 0.22	8.69 ± 1.07

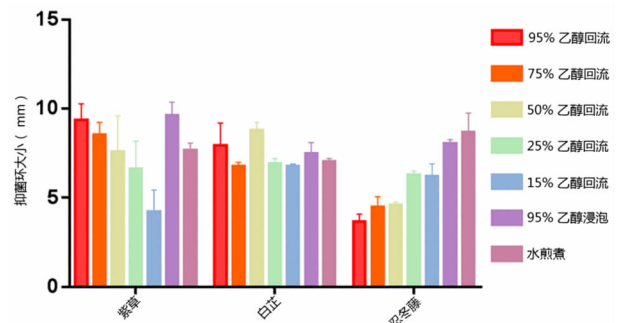


图1 不同药物提取物对金黄色葡萄球菌的抑菌作用

2.1.2 药物 紫草、白芷、忍冬藤饮片制成的100目细粉(健民药业提供)。

2.1.3 试剂与仪器 95%乙醇(V/V浓度),蒸馏水,生理盐水,营养琼脂培养基(北京奥博星生物技术有限公司,批号20170412),琼脂粉(北京奥博星生物技术有限公司,批号20180106),沙氏保罗培养基(杭州天和微生物试剂有限公司,批号130718)。旋转蒸发仪(郑州长城R-1001-VN)、一次性塑料平板(预灭菌),不锈钢涂布棒,接种环,打孔器,微量移液器(5~10 μL),托盘天平,量筒,游标卡尺等。

2.2 方法

2.2.1 药液制备 制作紫草、白芷的95%乙醇浸泡液,及忍冬藤水煎液,步骤见1.2.1。

2.2.2 平板打孔法抑菌实验 依照1.2.2中的操作步骤,分别制作足量的14种菌平板。使用游标卡尺分别检测紫草、白芷的95%乙醇浸泡液及忍冬藤水煎液作用于14种微生物平板24h后的抑菌环大小,计算平均值。

2.3 结果 实验结果显示,紫草醇提取物能对多数菌种产生良好的抑菌效果;铜绿假单胞菌是烧伤创面感染的主要致病菌^[2],与白色念珠菌一起,多发生于免疫低下人群,是院内感染中主要的病原菌^[3],常通过皮肤破损处侵犯人体,实验结果显示紫草醇提取物对二者均有一定特殊抑制作用。变形杆菌和鲍曼不动杆菌都是烧伤创面较易分离得到的菌种^[4],忍冬藤水煎液对二者具有特殊的抑制作用。同时对3种药液敏感的常见致病菌包括:金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、变形杆菌;枯草芽孢杆菌广泛存在于自然界,具有广谱抑菌活性,能增强细胞免疫和体液免疫^[5],促进皮损愈合^[6],3种药液在抑制致病菌的同时亦对该益生菌产生抑制;对3种药液均不敏感的菌种包括:大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、产气肠杆菌。可为临床应用提供参考。总之,紫草、白芷、忍冬藤的抑菌谱存在一定差异,在抑制致病菌活性同时也抑制益生菌的活动。见表2、图2。

表2 3种药物提取物抑菌作用($\bar{x} \pm s$, mm)

菌种	药物抑菌环大小		
	紫草 95%乙醇浸泡	白芷 95%乙醇浸泡	忍冬藤 水煎煮
金黄色葡萄球菌	9.99 ± 0.28	6.57 ± 0.22	8.19 ± 2.26
表皮葡萄球菌	7.96 ± 0.24	6.81 ± 0.24	7.59 ± 0.19
变形杆菌	10.37 ± 0.72	10.73 ± 0.94	19.59 ± 1.19
乙型副伤寒沙门菌	7.13 ± 0.23	7.12 ± 0.64	—
嗜麦芽杆菌	7.66 ± 0.51	—	7.12 ± 0.31
腐生葡萄球菌	8.21 ± 1.21	—	8.98 ± 0.13
福氏志贺菌	11.85 ± 0.59	—	11.50 ± 0.15
白色念珠菌	7.26 ± 0.55	—	—
铜绿假单胞菌	7.72 ± 0.43	—	—
鲍曼不动杆菌	—	—	9.05 ± 0.37
大肠埃希氏菌	—	—	—
肺炎克雷伯菌	—	—	—
产气肠杆菌	—	—	—
枯草芽孢杆菌	10.94 ± 0.32	8.32 ± 0.31	8.53 ± 0.52

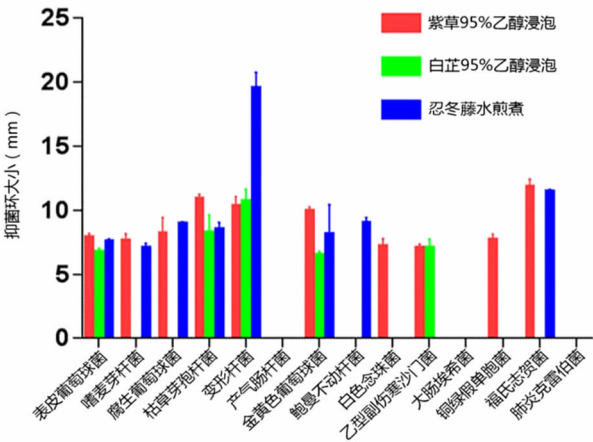


图2 3种药物提取物抑菌作用比较

3 复方紫草油抑菌实验

前期实验已知,紫草、白芷、忍冬藤均对肺炎克雷伯菌、产气肠杆菌、大肠埃希菌无效。复方紫草油成药中含有冰片,抗菌谱可能发生变化,且忍冬藤抑菌成分在水相溶解度更好。本实验旨在确认复方紫草油抗菌特点。复方紫草油为油剂,普通的菌平板为琼脂制作,扩散效果微弱,难以客观体现抑菌能力,因此需通过加入乳化剂辅助其扩散。

3.1 材料

3.1.1 微生物 金黄色葡萄球菌 ATCC29213、表皮葡萄球菌 ATCC12228、变形杆菌 ATCC6896、乙型副伤寒沙门菌 CMCC50094、嗜麦芽窄食单胞菌 ATCC17666、腐生葡萄球菌 ATCC43867、福氏志贺菌 ATCC15922、白色念珠菌 ATCC90029、铜绿假单胞菌 ATCC27853、鲍曼不动杆菌 ATCC19606、枯草芽孢杆菌 ATCC6633。

3.1.2 药物 紫草油(健民集团叶开泰国药(随

州)有限公司,国药准字 Z20044385)。

3.1.3 试剂与仪器 失水山梨糖醇单油酸酯(司盘 80,东京化成工业株式会社,7ILXB-MN),聚山梨酯 80(吐温 80,天津市富宇精细化工有限公司,20161117),单硬脂酸甘油酯(天津市光复精细化工研究所,20170519),营养琼脂培养基(北京奥博星生物技术有限公司,批号 20170412),琼脂粉(北京奥博星生物技术有限公司,批号 20180106),沙氏保罗培养基(杭州天和微生物试剂有限公司,批号 130718),蒸馏水,生理盐水。干燥箱(上海一恒/DHG-9240A),高压灭菌器(Tomy SX-500),恒温培养箱,上海森信/GRP-9160,冷藏冷冻箱(美菱/BCD-301WECK),医用净化工作台(海尔/HCB-1300V),生物安全柜(Eppendorf NU437-60),电子天平(上海舜宇恒平/FA2004),数显三用恒温水箱(上海森信/DK-S26),涡旋振荡器(其林贝尔 01-861),一次性塑料平板(预灭菌),消毒棉签,不锈钢涂布棒,微量移液器,打孔器,托盘天平,量筒等。

3.2 方法

3.2.1 乳化剂添加比例的确定 将司盘 80、单硬脂酸甘油酯和吐温 80 按 5:3:10 的比例进行混合^[7],高压灭菌即得乳化剂。取乳化剂与复方紫草油按 20%~80% 药油的不同比例震荡混匀,浓度梯度为 10%,静置 24 h,观察混合物分层情况。可发现复方紫草油浓度在 60% 以上(含 60%)的乳化剂-复方紫草油混合物在静置后发生分层,故而选择配制含 50% 复方紫草油的混合物进行乳化药品抑菌实验。

3.2.2 复方紫草油乳化物抑菌实验 取保存菌种,无菌条件下培养 18~24 h,得到指数生长期菌样本,4 摄氏度冰箱保存备用。配置菌悬液 10⁸ cfu/mL 菌悬液。取 1 mL 灭菌培养基倒入无菌一次性塑料平板中,轻轻摇晃,使培养基均匀铺于平板底端,凝固后再放入高温烘烤灭菌的牛津杯[外径(5.52±0.32)mm],每平板放置 4 个,间距不少于 25 mm。再取 8.5 mL 培养基与 500 μL 菌液混合,涡旋振荡器振荡充分混匀后倒入平板,待凝固后取出牛津杯。将乳化剂与复方紫草油按 1:1(V/V)比例震荡混匀即得含 50% 复方紫草油的复方紫草油乳化物,加入菌平板孔中,设置空白乳化剂为对照,放入 37℃ 培养箱中培养过夜。

3.3 结果 1)空白乳化剂无抑菌效果。加入该乳化剂不影响实验结果。2)复方紫草油乳化物(50% 浓度)抑菌效果:50% 复方紫草油对鲍曼不动杆菌、

产气肠杆菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌无抑制作用,对于其他菌种则有不同程度的抑菌作用,尤其对铜绿假单胞菌抑制作用较明显。与各组分药物抑菌特点比较可知,复方紫草油对铜绿假单胞菌的抑制作用主要来自冰片。见表 3、图 3。

表 3 复方紫草油乳化物抑菌作用($\bar{x} \pm s$, mm)

菌种	药物抑菌环大小
金黄色葡萄球菌	10.07 ± 0.37
表皮葡萄球菌	8.06 ± 1.86
腐生葡萄球菌	8.6 ± 0.54
嗜麦芽窄食单胞菌	7.71 ± 0.83
变形杆菌	11.10 ± 0.84
鲍曼不动杆菌	-
白色念珠菌	7.87 ± 0.39
乙型副伤寒沙门菌	6.86 ± 0.14
铜绿假单胞菌	14.43 ± 0.97
福氏志贺菌	12.34 ± 2.21
肺炎克雷伯菌	-
产气肠杆菌	-
大肠埃希菌	-
枯草芽孢杆菌	11.22 ± 3.12

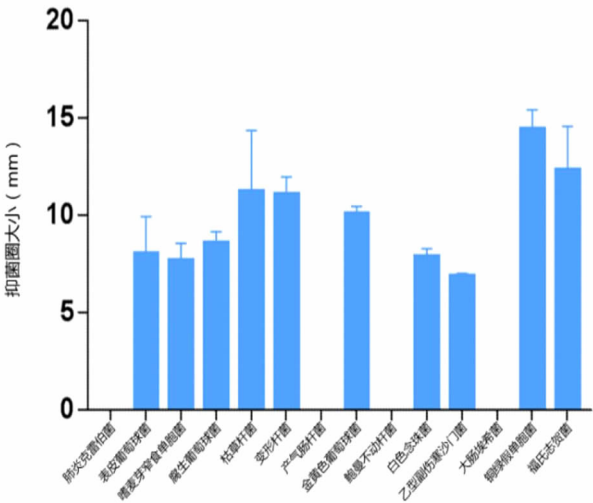


图 3 乳化紫草油抑菌筛选

4 复方紫草油针对性抑菌实验(菌落计数法)

皮肤是人体表面直接接触外界环境的器官,其强大的屏障功能对保持人体健康具有重要意义,包括物理屏障、色素屏障、神经屏障、免疫屏障。其中,物理屏障、免疫屏障均与皮肤微生态的平衡关系密切。皮肤微生态是指人体皮肤表面微生物群构成的复杂生态系统。研究表明,微生态在银屑病^[8]、特应性皮炎^[9]等慢性难治性皮肤病的发病中起到重要作用,特应性皮炎与菌群的研究尤为丰富,研究表明,金黄色葡萄球菌在特应性皮炎患者皮损处占绝对优势,并且金黄色葡萄球菌与表皮葡萄球菌的波动与特应性皮炎病情发展密切相关^[10],特应性皮炎

表 4 复方紫草油针对性抑菌作用($\bar{x} \pm s$, 个)

时间	金黄色葡萄球菌	大肠埃希菌	白色念珠菌	铜绿假单胞菌	表皮葡萄球菌
0 h	5 669 ± 1 010. 17	3 613 ± 48. 84	6 093 ± 370. 86	4 072 ± 196. 04	2 304 ± 152. 29
1 h	5 351 ± 2 546. 11	3 592 ± 79. 17	7 957 ± 247. 00	3 996 ± 120. 88	1 762 ± 73. 00
3 h	2 653 ± 294. 06	3 573 ± 40. 51	5 167 ± 1 986. 51	3 523 ± 97. 02	1 348 ± 62. 58
6 h	1 898 ± 372. 01	3 653 ± 74. 57	2 205 ± 596. 80	2 786 ± 290. 01	1 155 ± 100. 51
24 h	1 202 ± 193. 10	3 746 ± 101. 13	1 646 ± 771. 80	1 883 ± 211. 68	925 ± 71. 06

患者还往往伴有念珠菌定植^[11]。另外,烧伤创面感染主要以铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌为主^[12];尿布皮炎与念珠菌感染关系密切^[13]。目前复方紫草油常用于烧烫伤、尿布皮炎的护理。通过菌落计数法研究复方紫草油对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、白色念珠菌、铜绿假单胞菌 4 种重要微生物的抑制作用,可以进一步深化对该药抑菌作用的认识。

4.1 材料

4.1.1 微生物 革兰氏阳性菌:金黄色葡萄球菌 ATCC29213、表皮葡萄球菌 ATCC12228;革兰氏阴性菌:铜绿假单胞菌 ATCC27853、大肠埃希菌 ATCC35218。真菌:白色念珠菌 ATCC90029。

4.1.2 药物 紫草油(健民集团叶开泰国药(随州)有限公司,国药准字 Z20044385)。

4.1.3 试剂与仪器 失水山梨糖醇单油酸酯(司盘 80,东京化成工业株式会社,7ILXB-MN),聚山梨酯 80(吐温 80,天津市富宇精细化工有限公司,20161117),单硬脂酸甘油酯(天津市光复精细化工研究所,20170519),营养琼脂培养基(北京奥博星生物技术有限公司,批号 20170412),琼脂粉(北京奥博星生物技术有限公司,批号 20180106),沙氏保罗培养基(杭州天和微生物试剂有限公司,批号 130718),蒸馏水,生理盐水。高压灭菌器(Tomy SX-500),恒温培养箱(上海森信/GRP-9160),冷藏冷冻箱(美菱/BCD-301WECK),医用净化工作台(海尔/HCB-1300V),生物安全柜(Eppendorf NU437-60),电子天平(上海舜宇恒平/FA2004),涡旋振荡器(其林贝尔 01-861),一次性塑料平板(预灭菌),消毒棉签,不锈钢涂布棒,微量移液器,托盘天平,量筒等。

4.2 方法 取相应保存菌种,无菌条件下培养 18 ~ 24 h,得到指数生长期菌样本,配置 10⁶ cfu/mL 菌悬液备用。配制含 50% 复方紫草油的复方紫草油-乳化剂混合物。取 2 mL 灭菌 EP 管,加入 1 mL 混合物和 500 μL 菌悬液震荡混匀,设置无菌生理盐水及空白乳化剂加等量菌液菌为对照,分别孵育 0、1、3、6、24 h。取高压灭菌培养基 10 mL,加入孵育后的菌

液 200 μL,震荡混匀,倒入无菌培养皿中,待培养基凝固后,放入 37 ℃ 培养箱中培养过夜,再分别进行菌落计数。

4.3 结果 已知复方紫草油对大肠埃希菌无抑菌效果,以其为质控参照。除大肠埃希菌外,复方紫草油乳化剂与各菌种充分接触孵育作用后,其抑菌作用效果在 24 h 内基本随着接触时间的延长而逐渐增长。对白色念珠菌起效时间较晚,但总体抑制效果与其他细菌相近。见表 4、图 4 ~ 6。

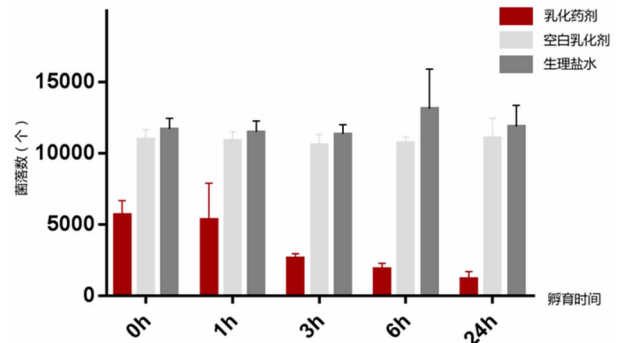


图 4 乳化药剂抑菌实验(金黄色葡萄球菌)

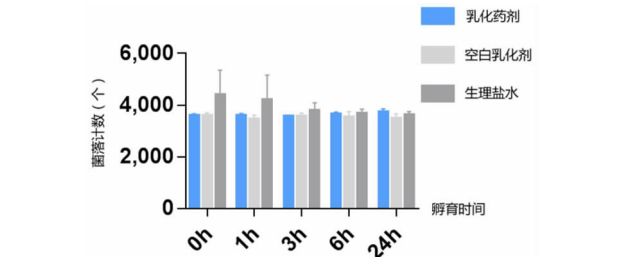


图 5 乳化药剂抑菌实验(大肠埃希菌)

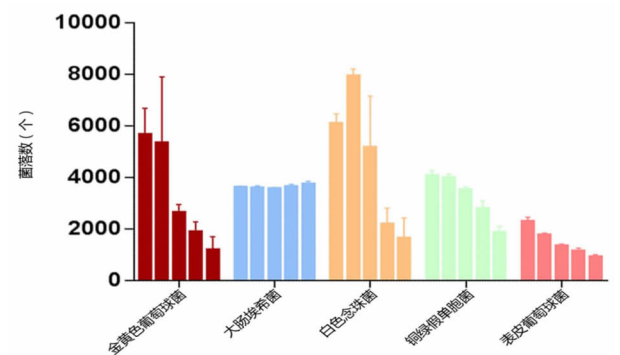


图 6 乳化药剂多菌菌落计数

5 讨论

组分提取物抑菌实验表明:1)紫草、白芷、忍冬

藤均具备一定抑菌能力;紫草、白芷的抑菌成分在有机溶剂中较易溶出,忍冬藤抑菌成分在水中较易溶出;紫草、忍冬藤的抑菌成分对热不稳定。2)紫草醇提物能对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、变形杆菌、乙型副伤寒沙门菌、嗜麦芽杆菌、腐生葡萄球菌、福氏志贺菌、白色念珠菌、铜绿假单胞菌等十种致病菌产生良好的抑菌效果。3)忍冬藤水煎液对变形杆菌的抑制作用最为突出。4)紫草、白芷、忍冬藤都可抑制的致病菌包括:金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、变形杆菌;都无抑制作用的菌种包括:大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、产气肠杆菌。5)在抑制致病菌的同时,紫草、白芷、忍冬藤对益生菌也有一定抑制作用。

综合成药抑菌结果与组分抑菌结果可知:1)复方紫草油可以对多种常见的皮肤感染致病菌产生抑制作用。2)成药抗菌谱不等于各组分抗菌谱的简单叠加,复方紫草油抗菌谱主要偏向紫草醇提物抗菌谱。3)复方紫草油在抑制致病菌的同时,对益生菌也有一定抑制作用。4)复方紫草油对白色念珠菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌均有较好的抑制作用,适用于烧烫伤、尿布皮炎、特应性皮炎等疾病的护理。

尿布皮炎、特应性皮炎等病主要发于幼儿,患者家属对药物有效性和安全性都具有较高的期待。中医外科传统制剂多具有良好的抑菌作用和免疫调节作用,比较西药疗效温和,安全性好,但因组方复杂、剂型特殊而长期缺乏针对性的研究。该系列实验对复方紫草油的体外抑菌特点进行了初步探索,未来将通过更缜密的实验讨论复方紫草油对于皮肤微生

态的影响,从而进一步为临床针对性地运用该药提供实验室依据。

参考文献

- [1] 陆继梅,孟建华,安立,等. 中医外科外用散剂组方中药体外抗菌作用的实验研究[J]. 中国药物经济学,2012,7(1):35-38.
- [2] 陈书杨,高兴新,梁自乾,等. 小儿烧伤患者病原菌分布及耐药性分析[J]. 现代预防医学,2016,43(6):1027-1029,1036.
- [3] 文细毛,任南,吴安华,等. 全国医院感染监控网老年患者医院感染病原菌及其耐药特征分析[J]. 中华医院感染学杂志,2005,15(12):1346-1348.
- [4] 丁华荣,胡加平,李德绘,等. 烧伤整形外科 1963 株细菌及其耐药情况分析[J]. 广西医科大学学报,2019,36(1):102-106.
- [5] 王源,赵文文,刁新平. 枯草芽孢杆菌的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医,2018,4(19):62-64.
- [6] 李晓云,牟阳,王淑清. 枯草芽孢杆菌活菌制剂促进创伤皮肤愈合的实验研究[J]. 黑龙江医药,2002,15(5):369-370.
- [7] 高媛,刘云云,马晓昱,等. 复方紫草油微生物限度检查法的建立[J]. 实用医药杂志,2018,35(1):51-53.
- [8] 刘小萍,高延瑞. 抗菌肽和微生态在银屑病中的研究进展[J]. 中国麻风皮肤病杂志,2013,29(11):712-714.
- [9] 樊春梅,张虎田. 新辅助化疗治疗晚期卵巢癌的疗效观察[J]. 中国继续医学教育,2016,8(33):195-197.
- [10] Kong HH, Oh J, Deming C, et al. Temporal shifts in the skin microbiome associated with disease flares and treatment in children with atopic dermatitis[J]. Genome Res,2012,22(5):850-859.
- [11] 张秀钦. 特应性皮炎患者皮损致病真菌定植分析[D]. 福州:福建医科大学,2013.
- [12] 杨璐,吴长梦,李庆蓉,等. 2073 株烧伤患者创面分泌物病原菌种类分布及耐药性分析[J]. 中国抗生素杂志,2018,43(5):577-582.
- [13] 朱红,宋莉莉. 婴儿尿布皮炎与念珠菌感染的关系[J]. 浙江医学,2002,24(3):169-170.

(2019-03-31 收稿 责任编辑:王明)