

文章编号: 1673-8640 (2019) 11-0987-04 中图分类号: R284 文献标志码: A DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2019.11.006

8 种中草药临床常见菌株体外抑菌活性分析

赵英妹, 乔 昀

(上海中医药大学附属曙光医院检验科, 上海 200021)

摘要: **目的** 分析黄连等8种中草药对临床常见耐药与非耐药菌株的体外抑菌活性。**方法** 选择8种常用抗菌中草药(黄连、金银花、野菊花、连翘、大黄、鱼腥草、芦根和穿心莲), 采用水提法制备至药物浓度为1 g/mL。采用肉汤稀释法测定8种中草药对金黄色葡萄球菌(ATCC 29213)、甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)、大肠埃希菌(ATCC 25922)、产超广谱 β -内酰胺酶(ESBL)大肠埃希菌(ATCC 35218)和临床分离的ESBL(-)大肠埃希菌、ESBL(+)大肠埃希菌的最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(MBC)。**结果** 黄连、金银花、野菊花、连翘和大黄对金黄色葡萄球菌(ATCC 29213)、MSSA和MRSA的MIC值为7.81~125 mg/mL。黄连和金银花对大肠埃希菌(ATCC 25922)、产ESBL大肠埃希菌(ATCC 35218)、ESBL(-)大肠埃希菌和ESBL(+)大肠埃希菌的MIC值为62.50~250.00 mg/mL。黄连对金黄色葡萄球菌(ATCC 29213)、MSSA和MRSA的MBC值为15.62~62.50 mg/mL, 对大肠埃希菌(ATCC 25922)、产ESBL大肠埃希菌(ATCC 35218)、ESBL(-)大肠埃希菌和ESBL(+)大肠埃希菌的MBC值为250.00~500.00 mg/mL。同一种中草药对耐药菌株和非耐药菌株的抑菌活性无明显差异。**结论** 黄连、金银花、野菊花、连翘和大黄对金黄色葡萄球菌(ATCC 29213)、MSSA和MRSA有较强的抑菌作用; 黄连和金银花对大肠埃希菌(ATCC 25922)、产ESBL大肠埃希菌(ATCC 35218)、ESBL(-)大肠埃希菌和ESBL(+)大肠埃希菌也有一定的抑菌作用。

关键词: 中草药; 耐药菌株; 非耐药菌株; 抑菌活性

Antibacterial activities of 8 kinds of Chinese herbal medicines to clinical common isolates *in vitro* ZHAO Yingmei, QIAO Yun. (Department of Clinical Laboratory, Shuguang Hospital, Shanghai Traditional Chinese Medicine University, Shanghai 200021, China)

Abstract: **Objective** To study the antibacterial activities of 8 kinds of Chinese herbal medicines to clinical common resistant and non-resistant isolates *in vitro*. **Methods** Totally, 8 kinds of Chinese herbal medicines, including *Rhizoma coptidis*, *Honeysuckle*, *Chrysanthemum indicum*, *Forsythia*, *Rhubarb*, *Cordate houttuynia*, *Rhizoma phragmitis* and *Andrographis paniculata*, were selected and extracted with pure water concentrated with 1 g/mL. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA), methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218 which produced extended-spectrum beta-lactamase (ESBL), ESBL(-) *Escherichia coli* and ESBL(+) *Escherichia coli* were used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) *in vitro* by liquid dilution method. **Results** The MIC of *Rhizoma coptidis*, *Honeysuckle*, *Chrysanthemum indicum*, *Forsythia* and *Rhubarb* to *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, MSSA and MRSA were 7.81-125.00 mg/mL. The MIC of *Rhizoma coptidis* and *Honeysuckle* to *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218 produced ESBL, ESBL(-) *Escherichia coli* and ESBL(+) *Escherichia coli* were 62.5-250.0 mg/mL. The MBC of *Rhizoma coptidis* to *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, MSSA and MRSA were 15.62-62.50 mg/mL, and the MBC of *Rhizoma coptidis* to *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Escherichia coli* ATCC 35218 produced ESBL, ESBL(-) *Escherichia coli* and ESBL(+) *Escherichia coli* were 250-500 mg/mL. The bacteriostatic action of the same kind of Chinese herbal medicine to resistant and non-resistant isolates had no statistical significance. **Conclusions** *Rhizoma coptidis*, *Honeysuckle*, *Chrysanthemum indicum*, *Forsythia* and *Rhubarb* have strong bacteriostatic action to *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, MSSA and MRSA. *Rhizoma coptidis* and *Honeysuckle*

作者简介: 赵英妹, 女, 1982年生, 学士, 主管技师, 主要从事微生物学检验工作。

通信作者: 乔 昀, 联系电话: 021-53827204。

also have certain bacteriostatic action to *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218 produced ESBL, ESBL (-) *Escherichia coli* and ESBL (+) *Escherichia coli*.

Key words: Chinese herbal medicine; Drug resistant isolate; Non-drug resistant isolate; Antibacterial activity

抗菌中草药具有副作用小、不易残留和较少出现细菌耐药等优点,具有良好的应用前景^[1]。中药材中有许多药物都有抗菌消炎的作用,虽然其作用机制尚不十分明确,但是可以肯定的是具有一定的临床应用价值。本研究通过检测8种常用的清热解毒抗菌类中草药——黄连、金银花、野菊花、连翘、大黄、鱼腥草、芦根和穿心莲对标准菌株金黄色葡萄球菌(ATCC 29213)、大肠埃希菌(ATCC 25922)、产超广谱 β -内酰胺酶(extended-spectrum beta-lactamase, ESBL)大肠埃希菌(ATCC 35218)和临床标本中分离出的甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*, MSSA)、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)、ESBL(-)大肠埃希菌、ESBL(+)大肠埃希菌的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)和最小杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC),了解中草药对耐药与非耐药菌株的体外抑菌活性。

1 材料和方法

1.1 研究对象

收集分离自临床标本的MSSA、MRSA、ESBL(-)大肠埃希菌和ESBL(+)大肠埃希菌各10株;标准菌株金黄色葡萄球菌(ATCC 29213)、大肠埃希菌(ATCC 25922)、大肠埃希菌(ATCC 35218)购自上海市临床检验中心。

中草药生药(黄连、金银花、野菊花、连翘、大黄、鱼腥草、芦根和穿心莲)购自上海康桥中药饮片有限公司。

肉汤培养基购自上海伊华医学科技有限公司。

1.2 方法

参照文献[2-4],采用中草药抗菌实验试管法进行具体操作。

1.2.1 中草药原液的制备 称取中草药生药各50 g,按5倍的量加入蒸馏水浸泡,置于4℃冰箱内24 h后,加热至100℃煮沸30 min,过滤,将滤渣再加5倍蒸馏水加热至100℃煮沸30 min,过滤,将2次滤液混合加热浓缩至50 mL,生药含量为1 g/mL,调pH值为7.6,离

心后留取上清。所得的生药原液121℃高压蒸汽灭菌20 min后4℃保存备用。

1.2.2 肉汤培养基的配制 按培养基说明书方法称量培养基,溶解于蒸馏水中,调pH值为7.6,高压灭菌。

1.2.3 药液的倍比稀释 取430支无菌试管,分为43组,每组取10支小试管,并做好标记,每组10支试管中分别加入2 mL肉汤培养基;吸取生药原液2 mL,先加在第1支试管中,摇匀后从第1支试管中吸出2 mL放入第2支试管中并摇匀,再从第2支试管中吸出2 mL放入第3支试管中,依此类推,从第9支试管中吸出2 mL药液并弃去,使9支试管中均含有倍比稀释的药液,药物浓度依次为500、250、125、62.5、31.25、15.625、7.812 5、3.906、1.95 mg/mL。第10支试管不加药,作为生长菌液对照。

1.2.4 菌悬液的制备 将菌株接种于营养琼脂培养基,35℃孵育24 h,观察菌落形态并进行生化反应再次鉴定后备用。挑取菌落,用2~3 mL无菌0.9%氯化钠溶液校正至0.5麦氏浊度,使其含菌量为 1.0×10^8 CFU/mL。

1.2.5 药物MIC测定 在制备好的含不同种类和不同浓度生药的肉汤培养基试管中,每管加0.1 mL的菌液(除第9支试管外),充分混匀后,37℃培养24 h,观察结果。以第9支试管应无细菌生长作为药液对照,第10支试管应有细菌生长作为菌液对照。若肉汤混浊,表示细菌生长;若肉汤完全清亮,表示无细菌生长。以抑制试验菌生长的药液最高稀释度为该中草药对该试验菌的抗菌效价,以能抑制试验菌生长的最高稀释度为MIC。

1.2.6 药物MBC测定 分别吸取0.1 mL未见细菌生长的各试管中的培养物,移种于不含药的营养琼脂培养基,37℃培养过夜,观察有无细菌生长。以平皿培养基中无细菌生长的药物浓度作为该中草药的MBC。

2 结果

2.1 8种常用抗菌中草药对菌株的MIC值

黄连、金银花、野菊花、连翘和大黄对金黄色葡萄球菌(ATCC 29213)、MSSA和MRSA有较强的抑菌作用,MIC值为7.81~125.00 mg/mL,

而且这几种中草药对耐药和非耐药金黄色葡萄球菌的抑菌作用没有明显差别。其他中草药对金黄色葡萄球菌 (ATCC 29213)、MSSA 和 MRSA 的抑菌作用均不太明显。黄连和金银花对大肠埃希菌 (ATCC 25922)、产 ESBL 大肠埃希菌 (ATCC 35218)、分离自临床标本的 ESBL (-) 大肠埃希菌和 ESBL (+) 大肠埃希菌有一定的抑菌作用, MIC 值为 62.50~250.00 mg/mL。见表 1、表 2。

2.2 8 种常见抗菌中草药对菌株的 MBC 值

黄连对金黄色葡萄球菌 (ATCC 29213)、MSSA 和 MRSA 有较强的杀菌作用, MBC 值为 15.62 ~ 62.50 mg/mL, 对大肠埃希菌 (ATCC 25922)、产 ESBL 大肠埃希菌 (ATCC 35218)、ESBL (-) 大肠埃希菌和 ESBL (+) 大肠埃希菌的 MBC 值为 250.00 ~ 500.00 mg/mL, 有一定的杀

菌作用。其他 7 种中草药对这几种临床常见病原菌的杀菌作用均不太明显。见表 2、表 3。

表 1 8 种常用抗菌中草药对 3 株标准菌株的 MIC

中草药 名称	(mg/mL)		
	大肠埃希菌 (ATCC 25922)	大肠埃希菌 (ATCC 35218)	金黄色葡萄 球菌 (ATCC 29213)
黄连	125.00	125.00	7.81
金银花	250.00	250.00	125.00
野菊花	500.00	500.00	125.00
连翘	250.00	500.00	125.00
大黄	>500.00	>500.00	125.00
鱼腥草	250.00	500.00	500.00
芦根	>500.00	>500.00	500.00
穿心莲	250.00	>500.00	250.00

表 2 8 种常用抗菌中草药对 40 株临床分离菌株的 MIC 和 MBC

中草药 名称	(mg/mL)			
	金黄色葡萄球菌			
	MSSA (10 株)		MRSA (10 株)	
	MIC	MBC	MIC	MBC
黄连	7.81 ~ 31.25	15.62 ~ 62.50	15.62 ~ 62.50	31.25 ~ 62.50
金银花	31.25 ~ 125.00	125.00 ~ 500.00	62.50 ~ 125.00	250.00 ~ 500.00
野菊花	31.25 ~ 125.00	500.00 ~ >500.00	62.50 ~ 125.00	500.00 ~ >500.00
连翘	15.62 ~ 62.50	250.00 ~ 500.00	31.25 ~ 125.00	250.00 ~ >500.00
大黄	31.25 ~ 125.00	500.00 ~ >500.00	62.50 ~ 125.00	500.00 ~ >500.00
鱼腥草	250.00 ~ 500.00	>500.00	250.00 ~ 500.00	>500.00
芦根	250.00 ~ 500.00	>500.00	250.00 ~ 500.00	>500.00
穿心莲	125.00 ~ 250.00	500.00 ~ >500.00	250.00 ~ 500.00	>500.00

中草药 名称	大肠埃希菌			
	ESBL (-) (10 株)		ESBL (+) (10 株)	
	MIC	MBC	MIC	MBC
黄连	62.50 ~ 250.00	250.00 ~ 500.00	62.50 ~ 250.00	250.00 ~ 500.00
金银花	125.00 ~ 250.00	250.00 ~ 500.00	125.00 ~ 250.00	500.00 ~ >500.00
野菊花	250.00 ~ 500.00	500.00 ~ >500.00	250.00 ~ 500.00	>500.00
连翘	125.00 ~ 500.00	250.00 ~ 500.00	250.00 ~ 500.00	>500.00
大黄	>500.00	>500.00	>500.00	>500.00
鱼腥草	125.00 ~ 250.00	>500.00	250.00 ~ 500.00	>500.00
芦根	>500.00	>500.00	>500.00	>500.00
穿心莲	250.00 ~ 500.00	>500.00	>500.00	>500.00

表 3 8 种常用抗菌中草药对 3 株标准菌株的 MBC

中草药 名称	(mg/mL)		
	大肠埃希菌 (ATCC 25922)	大肠埃希菌 (ATCC 35218)	金黄色葡萄 球菌 (ATCC 29213)
黄连	250.00	250.00	15.62
金银花	250.00	500.00	250.00
野菊花	500.00	>500.00	500.00
连翘	250.00	>500.00	250.00
大黄	>500.00	>500.00	500.00
鱼腥草	>500.00	>500.00	>500.00
芦根	>500.00	>500.00	>500.00
穿心莲	>500.00	>500.00	500.00

3 讨论

近年来, 由于抗菌药物的不合理使用, 导致大量耐药菌的出现, 严重影响临床疗效和患者健康^[5]。中草药是我国传统医学的瑰宝, 资源丰富, 价格低廉, 含有多种活性成分, 毒副作用小, 具有广谱抗菌作用且不易产生耐药性。几千年来, 清热解毒类中草药在抗感染治疗中发挥了重要的作用, 有的中草药虽然本身不具有抗菌特性, 但可以提高人体免疫力, 从而对疾病有所控制, 达到清热解毒的效果。所以,

从中草药中寻找抗菌资源和筛选抗菌药物越来越受到国内外学者的重视^[6]。

不同的中草药在抑菌效果上有很大差异^[7]。金黄色葡萄球菌是常见的革兰阳性致病菌，常引起局部化脓性感染，严重的会引起心包炎、败血症、脓毒血症等全身性感染。随着抗菌药物的广泛使用，MRSA 日趋增多，加强预防和控制 MRSA 感染是临床治疗和护理的重要任务之一。本研究结果显示，黄连、金银花、野菊花、连翘和大黄对金黄色葡萄球菌（ATCC 29213）、MSSA 和 MRSA 有较强的抑菌作用，MIC 值为 7.81 ~ 125.00 mg/mL，而且这几种中草药对耐药和非耐药金黄色葡萄球菌的抑菌作用没有明显差别，与李娜^[8]的研究结果一致。鱼腥草、芦根和穿心莲对金黄色葡萄球菌（ATCC 29213）、MSSA 和 MRSA 的抑菌作用均不明显。

本研究发现，黄连和金银花对大肠埃希菌（ATCC 25922）、产 ESBL 大肠埃希菌（ATCC 35218）、ESBL（-）大肠埃希菌和 ESBL（+）大肠埃希菌均有一定的抑菌作用，MIC 值为 125.00 ~ 250.00 mg/mL。金银花的功能性成分主要为黄酮类、有机酸、挥发油及三萜皂苷类等，各类功能性成分的综合作用，赋予金银花抑菌、抗病毒、解热、保肝利胆、增强免疫、抗肿瘤、降血脂血糖等诸多药理活性。胡璇等^[9]研究发现四倍体金银花水提物对金黄色葡萄球菌、乙型链球菌、大肠埃希菌等具有抗菌和杀菌作用。黄连属清热解毒类中草药，具有一定的抗病毒和抑菌作用，其根茎中的生物碱、挥发油及黄酮类物质，尤其是小檗碱的抑菌活性最突出，姚冬婷等^[10]发现黄连对金黄色葡萄球菌等致病菌具有较好的抑菌作用，尤其是对 MRSA 感染具有良好的治疗效果。本研究结果表明，8 种常用抗菌中草药对耐药和非耐药金黄色葡萄球菌的抑菌作用没有明显差别，有可能是中药逆转细菌耐药性机制导致的，主要表现在破坏细菌细胞壁结构、消除质粒、抑制 β -内酰胺酶、抑制耐药菌抗生物主动外排泵和提高机体免疫力^[11]。

本研究结果表明，黄连对金黄色葡萄球菌（ATCC 29213）、MSSA 和 MRSA 有较强的杀菌作用，MBC 值为 15.62 ~ 62.50 mg/mL；但对大肠埃希菌（ATCC 29522）、产 ESBL 大肠埃希菌（ATCC 35218）、ESBL（-）大肠埃希菌和 ESBL（+）大肠埃希菌的抑制作用不强。其他 7 种中草药对这几种细菌的抑制作用均不太明显。虽然同一种中草药对于耐药菌株和非耐药菌株的活性抑制作用稍有不同，但是总体来说其对耐药菌株和非耐药菌株的活性抑制作用差异并不大，与邓红梅等^[12]的研究结果一致。

在中草药中进行抗菌药物的发掘，有助于发挥中草药在临床抗感染治疗中的作用。本研究通过分析 8 种常用抗菌中草药对耐药与非耐药菌株体外抑菌活性，为其临床应用提供了一定的理论基础，也为治疗各种感染性疾病提供了新的参考。

参考文献

- [1] 杨淑文. 32 种中草药抑菌活性的比较研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39 (3): 1361-1362.
- [2] 李建志, 刘文丽, 王亚贤. 9 种中草药抗菌作用实验研究[J]. 中医药学报, 2012, 40 (1): 45-46.
- [3] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 259-262.
- [4] 曾祥吉, 李东霞. 中药抑菌实验方法的研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20 (4): 518-520.
- [5] 郭礼梁, 王建国. 医院感染影响因素及防控措施研究发展[J]. 现代预防医学, 2014, 41 (22): 4169-4171.
- [6] 王红霞. 抗真菌中药研究新进展[J]. 黑龙江医药, 2009, 19 (4): 310-311.
- [7] 赵鑫蓉, 艾启俊. 18 种中草药对大肠杆菌抑菌效果的研究[J]. 安徽农业科学, 2013, 41 (2): 599-600.
- [8] 李娜. 探究常见抗菌中草药对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抑菌作用[J]. 中国实用医药, 2015, 10 (11): 181-182.
- [9] 胡璇, 李卫东, 贾翎, 等. 四倍体金银花药材体外抗菌抗病毒实验研究[J]. 中国现代中药, 2015, 17 (11): 1160-1163.
- [10] 姚冬婷, 胡骏, 张雪清, 等. 黄连对金黄色葡萄球菌体外抑菌活性的分析[J]. 检验医学, 2017, 32 (7): 577-581.
- [11] 李汉永, 李旭成, 魏丛师. 中药治疗多重耐药菌的研究进展[J]. 湖北中医杂志, 2018, 40 (9): 54-58.
- [12] 邓红梅, 席亚萍. 中草药对耐药与非耐药菌株抑菌活性的对比分析[J]. 中外医疗, 2013, 32 (5): 143-144.

(收稿日期: 2018-08-15)

(本文编辑: 李 欣)