

# 泽漆水煎剂体外抑菌的疗效作用研究<sup>※</sup>

● 郁利<sup>1\*</sup> 吴昆仑<sup>2</sup> 都乐亦<sup>2</sup> 叶璐<sup>2▲</sup>

**摘要** 目的:观察泽漆水煎剂对口腔常见细菌的体外抑制效果。方法:配置 15 种口腔常见菌种的菌液,采用纸片扩散法,以复方氯己定含漱液为阳性对照、生理盐水为阴性对照,在微需氧环境培养 3 天后分别比较泽漆水煎剂低、中、高浓度的抑菌直径。结果:①泽漆水煎剂与复方氯己定含漱液相比较均具有低度敏感的抑菌作用。②三种浓度泽漆水煎剂抑菌效果比较:低浓度对需氧菌种的金色黄葡萄球菌和白色念珠菌具有较好的抑菌作用,中浓度对铜绿假单胞菌和两歧双歧杆菌抑制效果较好,而高浓度对需氧菌种的乙型溶血性链球菌和大肠埃希菌的抑制效果较好。③与复方氯己定含漱液相比较,泽漆水煎剂对金色黄葡萄球菌、白色念珠菌、两歧双歧杆菌、乙型溶血性链球菌、大肠埃希菌的抑菌效果优于前者。结论:泽漆水煎剂对口腔常见细菌,具有广谱的抑菌效果。

**关键词** 泽漆水煎剂;体外抑菌;口腔

中药泽漆是指大戟科二年生草本植物泽漆(*Euphorbia helioscopia* L.)的全草,别名黍茎、猫儿眼睛草、绿叶绿花草等,全国大部分地区均有分布,尤以江浙一带产量较多。出于《本经》,其性味苦,微寒,功效除能利水、化痰、散结外,还能杀虫<sup>[1]</sup>。

笔者与上海市浦东新区公利医院中医科的吴昆仑主任合作,对泽漆单味药物进行深入研究,前期应用其水煎剂治疗慢性牙周炎、复发性口疮、护理卧床住院病人口腔,均取得良好的疗效<sup>[2,3]</sup>,为了进一步明确泽漆水煎剂的治疗作用是否是通过对口腔常见细菌的抑制,进行了如下体外试验。

**※基金项目** 上海市中医药事业发展三年行动计划“浦东新区国家中医药发展综合改革试验区内涵建设”——中医药产品研发与转化中心建设项目(No. ZY3-CCCX-2-1001-13);上海市浦东新区卫计委中医肺系病学科建设项目(No. PWZzk2017-02)

**\*作者简介** 郁利,女,医学硕士,副主任医师。主要从事牙周病治疗、口腔种植等。

**▲通讯作者** 叶璐,女,副主任医师,主要从事中医内科临床。E-mail:yl1103@citiz.net

**•作者单位** 1.上海交通大学附属仁济东院(上海 200127); 2.上海市浦东新区公利医院(上海 200135)

## 1 材料与方法

**1.1 一般材料** 选择口腔常见菌种 15 种:金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、乙型溶血性链球菌( $\beta$  hemolytic streptococcus)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)、粘性放线菌(*Actinomyces viscosus*)、肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*)、大肠埃希菌(*E. coli*)、鲍氏不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)、弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*)、沙雷菌(*Shewanella oneidensis*)、双歧杆菌(*Bifidobacterium*)、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)、卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivialis*)、梭形杆菌(*Fusiform bacillus*)和中间普雷沃菌(*Prevotella intermedia*)

实验药物为泽漆水煎液,单味泽漆(产地安徽,上海万仕诚国药制品有限公司,批号 20170326-1),制备工艺为:10 倍量的蒸馏水,浸泡 60min,煮沸后煎煮 15min,过滤药液。于设定温度为 4℃ 的冰箱内冷藏备用,存放时间小于 14 天。根据前期预实验结果,我们将泽漆水煎原液分别稀释 1 倍和 4 倍,制备成低、中、高三个浓度梯度。阳性对照药物为复方氯己定含漱液(国药准字 H10920104,深圳南粤药业有限公司生

产), 阴性对照为生理盐水。

### 1.2 方法

1.2.1 细菌菌液的配置 将供试菌种移接入相对应的试管斜面培养基[胰蛋白胨 10g, 酵母提取物(Yeast extract) 5g, 氯化钠(NaCl) 10g, 琼脂 20g, 蒸馏水 1000mL, pH7.4 ~ 7.6]上, 置于 37℃ 恒温培养箱内培养 24h, 菌液浓度为  $2 \times 10^8$  CFU/ml, 4℃ 冷藏备用。

1.2.2 真菌菌液的配置 将真菌接种在培养基(蛋白胨 5g, 酵母浸出粉 2g, 葡萄糖 20g, 磷酸氢二钾 1g, 硫酸镁 0.5g, 蒸馏水 1000mL, pH6.2 ~ 6.6)上, 28℃ 培养 1~4 天, 菌液浓度为  $2 \times 10^8$  CFU/ml, 4℃ 冷藏备用。

1.2.3 检测方法 采用纸片扩散法(K-B 法)进行检测。将菌液均匀涂在直径为 9cm 的哥伦比亚血琼脂培养基上, 把直径为 6mm 的滤纸片(吸液量 20μl)贴于该培养基上, 中央 1 个, 周围 4 个, 滤纸片分别用泽漆水煎液(低、中、高三个浓度梯度)、复方氯己定含

漱液和生理盐水浸透, 在微需氧环境培养 3 天后观察结果。所有体外抑菌实验重复 3 次。

1.2.4 判定标准 以抑菌直径 > 10mm 为高度敏感, 7mm < 抑菌直径 ≤ 10mm 为中度敏感, 2mm < 抑菌直径 ≤ 7mm 为低度敏感, 抑菌直径 ≤ 2mm 为不敏感。

1.2.5 统计学方法 采用 SPSS20.0 统计学软件对数据进行统计学分析处理, 计量资料用均数 ± 标准差, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用 one-way ANOVA 检验。P < 0.05 则表示具有统计学差异。

## 2 结果

2.1 泽漆水煎剂与复方氯己定含漱液的体外抑菌效果 二者均具有低度敏感的抑菌作用。在同一细菌培养基中, 观察了三个浓度梯度的泽漆水煎剂和复方氯己定含漱液(阳性对照)的抑菌效果, 结果显示泽漆水煎剂与复方氯己定含漱液均具有低度敏感的抑菌作用。见图 1。

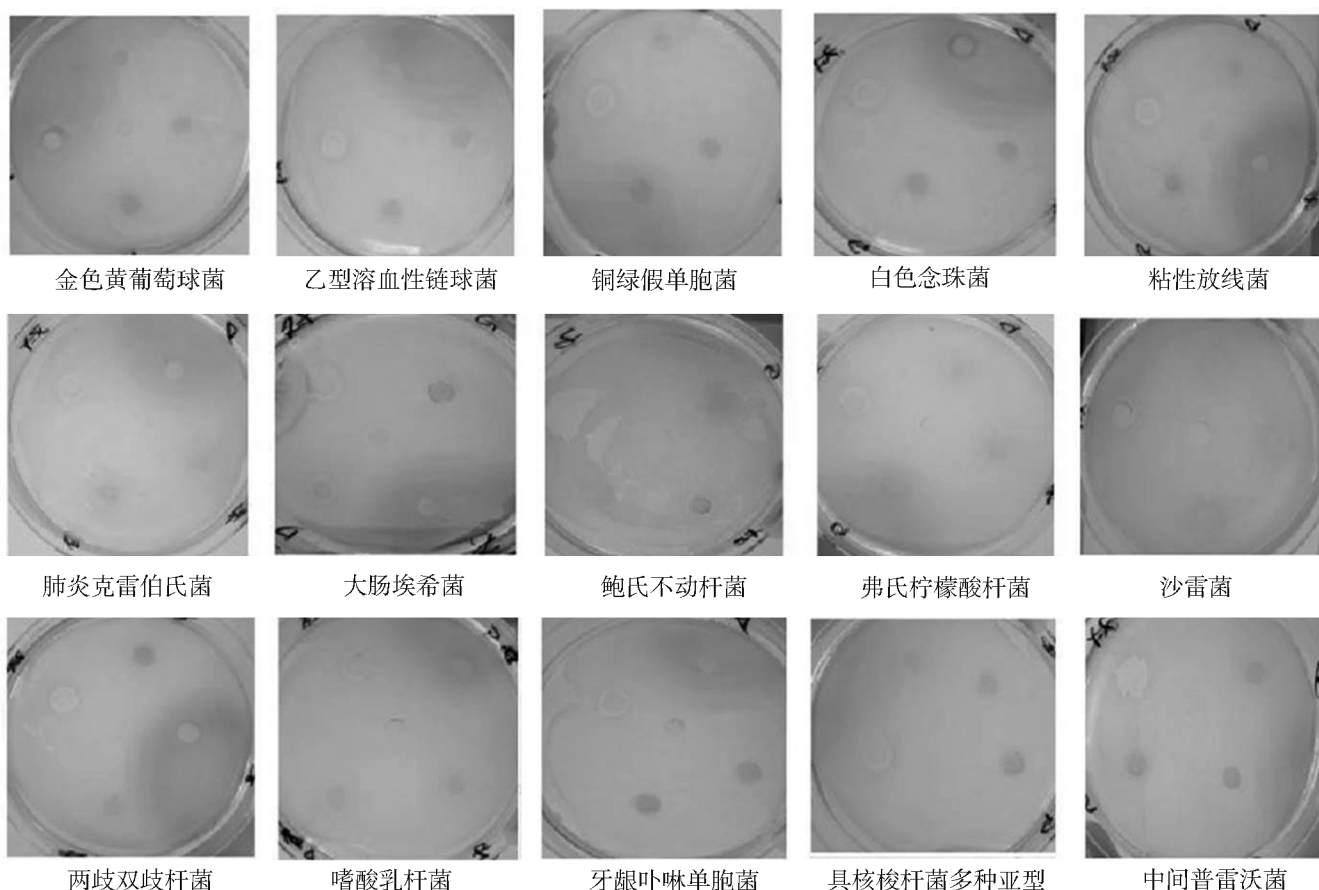


图 1 泽漆水煎剂和复方氯己定含漱液的体外抑菌效果典型图

注: 5 个滤纸片, 中央 1 个, 周围 4 个。中央 1 个为生理盐水阴性对照, 无药物扩散而颜色最浅的为阳性药对照(9 点)。泽漆水煎剂浓度梯度依次为低浓度(0 点), 中浓度(3 点), 高浓度(6 点)。

表 1 浓度梯度泽漆水煎剂对 15 种口腔常见菌种的抑菌作用 ( $\bar{x} \pm s, \text{mm}$ )

组别	水提低浓度	水提中浓度	水提高浓度	阳性对照	阴性对照
金黄色葡萄球菌	2.75 ± 0.35 <sup>ab</sup>	1.25 ± 0.35	1.40 ± 0.14	1.90 ± 0.14	0.00 ± 0.00
乙型溶血性链球菌	0.90 ± 0.14	1.40 ± 0.14	2.25 ± 0.35 <sup>ad</sup>	1.35 ± 0.21	0.00 ± 0.00
铜绿假单胞菌	1.15 ± 0.21	2.00 ± 0.71 <sup>c</sup>	1.65 ± 0.21	1.75 ± 0.35	0.50 ± 0.00
白色念珠菌	2.25 ± 0.35 <sup>ab</sup>	1.25 ± 0.35	0.65 ± 0.21	1.35 ± 0.21	0.25 ± 0.07
粘性放线菌	1.25 ± 0.35	0.65 ± 0.21	0.65 ± 0.21	1.40 ± 0.14	0.00 ± 0.00
肺炎克雷伯氏菌	0.65 ± 0.21	0.75 ± 0.35	1.40 ± 0.57	0.75 ± 0.35	0.00 ± 0.00
大肠埃希菌	1.25 ± 0.35	2.15 ± 0.49	2.40 ± 0.57 <sup>ad</sup>	1.45 ± 0.21	0.00 ± 0.00
鲍氏不动杆菌	0.65 ± 0.21	1.40 ± 0.57	0.65 ± 0.21	1.10 ± 0.14	0.00 ± 0.00
弗氏柠檬酸杆菌	1.25 ± 0.35	0.9 ± 0.14	1.15 ± 0.21	1.90 ± 0.14	0.15 ± 0.21
沙雷菌	0.75 ± 0.35	1.25 ± 0.35	0.90 ± 0.14	1.50 ± 0.70	0.00 ± 0.00
两歧双歧杆菌	0.65 ± 0.21	2.25 ± 0.35 <sup>ac</sup>	0.90 ± 0.14	0.55 ± 0.07	0.10 ± 0.14
嗜酸乳杆菌	0.65 ± 0.21	1.25 ± 0.35	0.90 ± 0.14	1.35 ± 0.21	0.15 ± 0.21
牙龈卟啉单胞菌	1.05 ± 0.35	1.25 ± 0.35	1.65 ± 0.21	1.75 ± 0.35	0.10 ± 0.14
具核梭杆菌多形亚种	0.75 ± 0.35	1.25 ± 0.35	1.75 ± 0.35	2.00 ± 0.70	0.00 ± 0.00
中间普雷沃菌	1.25 ± 0.35	2.00 ± 0.71 <sup>c</sup>	0.75 ± 0.35	2.00 ± 0.70	0.00 ± 0.00

注:与复方氯己定含漱液(阳性对照组)相比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与中、高浓度泽漆水煎剂相比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与低、高浓度泽漆水煎剂相比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与低、中浓度泽漆水煎剂相比较,<sup>d</sup> $P < 0.05$

2.2 三种浓度泽漆水煎剂抑菌效果比较 不同浓度梯度泽漆水煎剂对不同的菌种抑菌效果不同。低浓度对需氧菌种的金色葡萄球菌( $P < 0.05$ )和白色念珠菌( $P < 0.05$ )具有较好的抑菌作用,中浓度对铜绿假单胞菌( $P < 0.05$ )和两歧双歧杆菌( $P < 0.05$ )抑制效果较好,而高浓度对需氧菌种的乙型溶血性链球菌( $P < 0.05$ )和大肠埃希菌( $P < 0.05$ )的抑制效果较好。见表 1。

2.3 与复方氯己定含漱液的抑菌效果比较 与复方氯己定含漱液相比较,低浓度的泽漆水煎剂对金色葡萄球菌( $P < 0.05$ )和白色念珠菌( $P < 0.05$ )、中浓度的泽漆水煎剂对两歧双歧杆菌( $P < 0.05$ )以及高浓度的泽漆水煎剂对乙型溶血性链球菌( $P < 0.05$ )和大肠埃希菌( $P < 0.05$ )的抑菌效果均优于复方氯己定含漱液。对铜绿假单胞菌和中间普雷沃菌的抑菌效果与复方氯己定含漱液相比较没有统计学差异( $P > 0.05$ )。见表 1。

### 3 讨论

慢性口腔感染如慢性牙周炎等是常见病多发病,在我国的患病率占到 70% 以上<sup>[4]</sup>,当前的主要治疗方案是通过洁治术清除菌斑和牙石,但是对于炎症较重的患者仍需要局部的药物治疗,如复方氯己定含漱

液,甚至有些患者需要全身抗生素的使用<sup>[5]</sup>。无论全身还是局部,长时间使用抗生素易产生细菌耐药。因此笔者积极探寻中医药疗法。

吴昆仑主任的导师善用泽漆内服治疗咳喘病。在对泽漆进行深入研究后,吴主任发现《本草纲目》中提到:“牙痛。用泽漆研为末,开水泡汁漱口。”<sup>[6]</sup>继而尝试将之应用于治疗慢性牙周炎、复发性口疮,护理住院卧床病人口腔等领域,均取得了较好的疗效。

慢性牙周炎的使动因子是牙菌斑的堆积,复发性口疮存在口腔感染的因素<sup>[7]</sup>,卧床住院病人也需要保持口腔清洁,预防感染。现代药理研究亦显示泽漆有抑菌作用。因而笔者与吴昆仑主任一同对泽漆水煎剂体外抑制口腔细菌的种类进行了探索。

本研究选取 15 种口腔内常见的细菌进行试验,结果显示不同浓度泽漆水煎剂对金黄色葡萄球菌、白色念珠菌、两歧双歧杆菌、乙型溶血性链球菌、大肠埃希菌具有良好的抑菌作用,其效果优于传统药物复方氯己定。在免疫力低下以及糖尿病、肿瘤和类风湿关节炎的患者中更易发生金黄色葡萄球菌和白色念珠菌导致的口腔和齿龈感染<sup>[8-11]</sup>。现代研究发现双歧杆菌和正畸白斑的发生有一定因果关系<sup>[12]</sup>。此外,乙型溶血性链球菌是感染性心内膜炎的致病菌,长期的口腔链球菌感染是感染性心内膜炎复发的危险因

素<sup>[13]</sup>。中间普雷沃菌亦被认为是慢性牙周炎相关的致病微生物<sup>[14]</sup>。

从本研究结果可以看出,泽漆水煎剂对口腔常见细菌,具有广谱的抑菌效果,并确有可能通过抑制口腔常见感染菌群的生长来达到治疗效果。

泽漆水煎剂的抑菌机制目前尚不完全清楚,已有的研究发现大戟科药物尤其是泽漆中有效成分假白榄烷类具有抑菌作用<sup>[15]</sup>,也有研究报道 1 - ethoxypentacosane, heptacosan - 1 - ol 和  $\beta$  - 谷甾醇可能是抑菌的主要成分<sup>[16]</sup>。泽漆抑菌的确切药理作用有待进一步深入研究。

笔者在临床应用泽漆水煎剂治疗口腔疾病,的确取得了较好的疗效,但本实验中泽漆对细菌的敏感性不高,可能有以下原因:①本研究采用的纸片扩散法(K - B 法)是体外抑菌试验中最常用的方法。泽漆水煎剂为悬浊液,成分较为复杂,其中的抑菌活性成分可能存在具挥发性、对热敏感,导致药物挥发等因素很可能影响到结果的准确性。②口腔微生物极为丰富,有研究者发现涵盖了 22 个细菌门的 318 个细菌属<sup>[17]</sup>,本研究仅选取了常见的 15 种常见口腔致病菌进行研究,可能与泽漆水煎剂实际的抑菌谱尚存在一定差异。下一步,笔者将对泽漆水煎剂进行稀释法定量测定,进一步阐明泽漆水煎剂的药效学数据,评估其抑菌性能,并深入探究泽漆的抑菌机制研究。

### 参考文献

[1] 雷载权. 中药学[M]. 上海:上海科技出版社,1995.  
 [2] 赵忆文,唐蕊蕊,吴昆仑. 泽漆含漱液治疗复发性口疮的临床观察与护理[J]. 上海护理,2010,10(6):62 - 64.  
 [3] 赵忆文,吴昆仑,都乐亦,等. 泽漆煎剂在口腔护理中的应用[J]. 上海护理,2011,11(3):54 - 56.  
 [4] 孟焕新. 临床牙周病学[M]. 第 2 版:北京大学医学出版社,2014.

[5] 王 宇,范雅娟,范求实,等. 肿痛安胶囊联合替硝唑注射液治疗牙周炎临床观察[J]. 中医药通报,2015,14(2):48 - 50 + 53.  
 [6] 李时珍. 本草纲目[M]. 第 1 版. 北京:中国书店,2013.  
 [7] 彭 倩,刘一平. 复发性口腔溃疡与幽门螺杆菌相关性的研究进展[J]. 现代中西医结合杂志,2013,22(26):2962 - 2964.  
 [8] Olczak - Kowalczyk D, Pyr? ak B, D? bkowska M, et al. Candida spp. and gingivitis in children with nephrotic syndrome or type 1 diabetes[J]. BMC Oral Health,2015,15:57.  
 [9] Machado FC, de Souza IP, Portela MB, et al. Use of chlorhexidine gel (0.2%) to control gingivitis and candida species colonization in human immunodeficiency virus - infected children; a pilot study[J]. Pediatr Dent, 2011,33(2):153 - 157.  
 [10] Jobbins J, Bagg J, Parsons K, et al. Oral carriage of yeasts, coliforms and staphylococci in patients with advanced malignant disease[J]. J Oral Pathol Med,1992,21(7):305 - 308.  
 [11] Jacobson JJ, Patel B, Asher G, et al. Oral staphylococcus in older subjects with rheumatoid arthritis[J]. J Am Geriatr Soc,1997,45(5):590 - 593.  
 [12] Tanner AC, Sonis AL, Lif HP, et al. White - spot lesions and gingivitis microbiotas in orthodontic patients[J]. J Dent Res,2012,91(9):853 - 858.  
 [13] Lockhart PB, Brennan MT, Thornhill M, et al. Poor oral hygiene as a risk factor for infective endocarditis - related bacteremia[J]. J Am Dent Assoc,2009,140(10):1238 - 1244.  
 [14] López R, Dahlén G, Retamales C, et al. Clustering of subgingival microbial species in adolescents with periodontitis[J]. Eur J Oral Sci,2011,119(2):141 - 150.  
 [15] Geng D, Yi LT, Shi Y, et al. Structure and antibacterial property of a new diterpenoid from Euphorbia helioscopia[J]. Chin J Nat Med,2015,13(9):704 - 706.  
 [16] Awaad AS, Alothman MR, Zain YM, et al. Comparative nutritional value and antimicrobial activities between three Euphorbia species growing in Saudi Arabia[J]. Saudi Pharm J,2017,25(8):1226 - 1230.  
 [17] 周学东,徐 健,施文元. 人类口腔微生物组学研究:现状、挑战及机遇[J]. 微生物学报,2017,57(6):806 - 821 + 792.

(收稿日期:2018 - 04 - 10)

(本文编辑:蒋艺芬)

(上接第 64 页)

[3] Martins - Neves, SR, Paiva - Oliveira DI, Wijers - Koster PM, et al. Chemotherapy induces stemness in osteosarcoma cells through activation of Wnt/ $\beta$  - catenin signaling[J]. Cancer Lett. 2016,370:286 - 295.  
 [4] 王振飞,李 煜,戴宝贞,等. 大蓟对 5 种癌细胞抑制作用的研究[J]. 中华中医药学刊,2008,26(4):761 - 762.  
 [5] 耿增岩,乔 逸,杨晓青,等. 北沙参的研究进展[J]. 现代中医药,2006,26(6):62 - 63.

[6] 罗安福,叶冬梅. 常用抗肿瘤药物致肝损害的研究概况[J]. 医学综述,2010,16(24):3725 - 3727.  
 [7] Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, et al. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions, Eur. J. Cell Biol. 1997,74(2):111 - 122.  
 [8] 刘 伟,李中燕,田 艳,等. 北沙参的化学成分及药理作用研究进展[J]. 国际药学研究杂志,2013,40(3):291 - 294.

(收稿日期:2017 - 12 - 10)

(本文编辑:金冠羽)