

解脲支原体中药药敏试验

★ 廖镜云 郭汉香 (广东省深圳市龙岗中心医院检验科 深圳 518116)

摘要:目的:探讨中草药对解脲支原体的抗菌作用。方法:应用微量稀释法测定了 156 种中草药对 14 株解脲支原体(每型各 1 株)的体外抑制效应。结果:解脲支原体对黄柏、白芷、地肤子和大黄等有较高的敏感性,其 $MIC_{90} \leq 7.81 \text{ mg/mL}$;对甘草、板蓝根、黄连、穿心莲和鱼腥草等的敏感性次之,其 MIC_{90} 为 $15.63 \sim 62.5 \text{ mg/mL}$;对黄芩、旱莲草和车前草等,在较高浓度($15.63 \sim 250 \text{ mg/mL}$ 生药)时,也有少数解脲支原体株敏感;对其余 141 种草药不敏感,其 $MIC_{90} > 250 \text{ mg/mL}$ 。结论:部分中药在解脲支原体感染的防治上具有重要价值。

关键词:解脲支原体;微量稀释法;MIC

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

解脲支原体(Uu)是非淋菌性尿道炎(NGU)的主要病原体之一^[1],为探讨中草药对 Uu 的抗菌作用,我们采用微量稀释法测定了部分中草药对 14 株解脲支原体国际标准株(每型各 1 株)的体外抑制效应。现报道如下。

1 材料和方法

1.1 中草药煎剂的准备 参考国内一些有关中草药抗菌作用的研究文献^[2,3],选取具有不同程度抑制某种病原体生长作用的下列中草药 156 种:五倍子、黄连、大黄、诃子、黄柏、蕃泻叶、秦皮、石韦、明矾、赤芍、黄芩、丹皮、红藤、余甘子、稀签草、地榆、旋覆花、败酱草、白头翁、桉叶、穿心莲、蛇含、使君子、海金沙、艾叶、茵陈、丁香、栀子、紫草、虎杖、连翘、老鹤草、香薷、菊花、儿茶、射干、茶叶、苦丁茶、大青叶、蒲公英、夏枯草、花椒、乌梅、胡黄连、辛夷、知母、没药、金樱子、田基黄、佩兰、菖蒲、侧柏叶、甘草、刘寄奴、葛根、大蓟、丹参、鸦胆子、金银花、甘遂、天葵、白醉皮、厚朴、青蒿、白芍、三颗针、茜草、五味子、马鞭草、千里光、紫花地丁、旱莲草、百部、白芷、芦荟、野菊花、仙鹤草、十大功劳、麻柳叶、木香、姜黄、黄芪、芦根、紫金牛、板蓝根、薄荷、蛇床子、苦参、车前草、菖蒲、升麻、荆芥、防风、麻黄、夜交藤、白花蛇舌草、地肤子、龙胆草、马兰、鱼腥草、紫荆皮、腹水草、玄参、泽泻、八角枫、鸡屎藤、桑叶、兔儿风、土牛膝、紫苏、紫菀、大血藤、川芎、桂枝、贯众、半枝莲、臭牡丹、白术、枳实、苦楝皮、马勃、土茯苓、黄精、牛蒡子、蚤休、金钱草、当归、漏芦、淡竹叶、益母草、菟丝子、瓜蒌、小蓟、干姜、木通、胖大海、生地、半边莲、桔梗、远志、藜香、商陆、五灵脂、隔山消、胆南星、乳香、岩白菜、茅根、山豆根、滑石、瞿麦、萆薢、琥珀、白茯苓、通草。

所有实验用药均由本院门诊中药房提供,并经生药鉴定。每种生药准确称取 10 g 略粉碎后,用纱

布包好,放入 1 000 mL 茶缸内,煎药时间按药性不同确定。根据煎药时间不同,加入 200~400 mL 自来水,浸泡 1 小时,然后用电炉分别煎 15~60 分钟,过滤。沉渣再加 1:8 或 1:5 自来水继续煎 30 分钟,过滤。两液混合,真空干燥浓缩至 1:1(即 1 mL 煎液相当于 1 g 生药),离心取上清液,补足失水,调整 pH 至 6.0 ± 0.5 ,分装试管,8 磅 15 分钟灭菌备用,2 个月内用完。

1.2 14 型 Uu 国际标准株 由国际友人赠送。

1.3 培养基的制备 按 Shepard^[4]法,略加改进。

1.4 Uu 的培养及其 CCU 测定 按 Robertson 法^[4]。

1.5 中草药煎剂的 MIC 测定 按 Kenny 法^[4],略加改进。操作在净化工作台内进行。①将 Uu 株原液 $10^6 \sim 10^8 \text{ CCU/20 mL}$,以新鲜液基作一定倍数的稀释,使 Uu 数量达 $8 \times 10^4 \text{ CCU/20 } \mu\text{L}$ 。②将备用新鲜液基置于 37°C 孵箱中,预温 2 小时。③将 5% μL 备用煎剂加至第 2~3 孔。④将 50 μL 鲜液基分别加入第 3~11 孔。⑤用微量移液器,从第 3 孔始倍比稀释备用煎剂至第 11 孔。⑥第 1 孔加液基 150 μL ,第 2~11 孔各 100 μL ,第 12 孔 200 μL 。⑦第 1~11 孔各加入 50 μL Uu 液体培养物。至此,所有孔的液体体积均为 200 μL (Uu 数量为 $10^4 \text{ CCU/200 } \mu\text{L}$)。⑧第 1 孔为阳性对照,第 12 孔为阴性对照。药物浓度从第 2 孔始依次为 250、125、62.5、31.25、15.625、7.812 5、3.906 3、1.953 1、0.976 6、0.488 3 mg/mL,共 10 个稀释度。⑨加样完毕后,盖上板盖,上覆数层无菌纱布, 37°C 孵育 24 小时后观察结果,直至阳性对照孔发生颜色改变。以最低无颜色变化的孔的药物浓度为最小抑菌浓度,即 MIC 值。

2 结果

2.1 微量稀释培养法测定 156 种中草药对 Uu 的

MIC 值 见表 1。结果判定以实验株在低浓度即被抑制表示该株对该药的敏感,而在高浓度时方被抑制表示该株对该药不敏感或者耐药。

2.2 当药物浓度为 7.81 mg/mL 时, Uu 对各种中草药的敏感率 见表 2。结果显示: Uu 对黄柏、白芷、地肤子和大黄等有较高的敏感性,其 $MIC_{90} \leq 7.81$ mg/mL 生药;对甘草、板蓝根、黄连、穿心莲、

胡黄连和鱼腥草等有中度的敏感性,其 MIC_{90} 为 15.63~62.5 mg/mL 生药;对苦楝皮和益母草等较低的敏感性,其 MIC_{90} 为 62.5~250 mg/mL 生药;对黄芩、旱莲草和车前草等,在较高浓度(15.63~250 mg/mL 生药)时,也有部分 Uu 株敏感,对其余 141 种中草药不敏感,其 $MIC_{90} > 250$ mg/mL 生药。

表 1 156 种中草药煎剂对 14 株解脲支原体标准株体外抑制作用结果

中草药	药物浓度度/mg.mL ^[-1]											范围	MIC_{50}	MIC_{90}
	0.49	0.98	2.00	3.91	7.81	15.63	31.25	62.5	125	250	>250			
黄柏	2	5	3	3	1	—	—	—	—	—	—	0.49~7.81	0.98	3.91
白芷	1	7	3	2	1	—	—	—	—	—	—	0.49~7.81	0.98	3.91
地肤子	1	—	2	5	6	—	—	—	—	—	—	0.49~7.81	3.91	7.81
大黄	—	1	3	7	2	1	—	—	—	—	—	0.98~15.63	3.91	7.81
甘草	—	2	4	3	3	1	1	—	—	—	—	0.98~31.25	7.81	15.63
黄连	—	—	1	5	4	3	1	—	—	—	—	2.00~62.50	7.81	15.63
穿心莲	1	3	2	4	—	—	3	—	1	—	—	0.49~125	3.91	31.25
胡黄连	—	—	2	—	5	4	3	—	—	—	—	2.00~31.25	7.81	15.63
板蓝根	—	1	—	2	8	—	1	2	—	—	—	0.98~62.5	7.81	62.5
鱼腥草	—	—	1	2	4	5	—	2	—	—	—	2.00~62.5	7.81	62.5
苦楝皮	—	—	—	2	3	7	—	2	—	—	—	3.91~62.5	15.63	62.5
益母草	—	—	—	—	—	2	2	—	3	7	—	7.81~250	125	250
旱莲草	—	—	—	—	—	—	1	2	4	3	4	15.63~250	125	>250
车前草	—	—	—	—	—	—	1	—	1	4	8	15.63~250	>250	>250
黄芩	—	—	—	—	—	—	—	1	3	5	5	31.25~250	250	>250
其余 141 种	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	14	>250	>250	>250

表 2 14 株 Uu 标准株在中草药煎剂浓度为 7.81 mg/mL 时的敏感率

中草药煎剂	敏感株数	敏感率(%)
黄柏	14	100
白芷	14	100
地肤子	14	100
大黄	13	92.9
甘草	12	85.7
板蓝根	11	78.6
黄连	10	71.4
穿心莲	10	71.4
胡黄连	7	50.0
鱼腥草	7	50.0
苦楝皮	5	35.7
益母草	2	14.3
其余 141 种	0	0

3 讨论

通过本实验,筛选出了黄柏、白芷和地肤子等具有明显体外抑制 Uu 效应的药物。尽管药物在体内的疗效机制比试管内抗菌作用更为复杂,但本实验可借鉴于临床上组方用药和冲洗外阴的药物选择。

NGU 是欧美国家发病率最高的一种性传播疾病,从我国部分地区的流行病学调查来看, Uu 感染率亦相当高^[4]。此外, Uu 与新生儿肺炎、不育症、慢性前列腺炎等有关。 Uu 的中草药敏性研究,是探索治疗 Uu 感染症的新途径,可为临床治疗 NGU 及

其它 Uu 感染症提供参考,并为进一步筛选中草药治疗 Uu 感染症提供借鉴。

由于有些中草药煎剂的色泽较深,如鱼腥草等,在药物稀释度较低时,可使培养基亦染上深色,往往影响肉眼观察,难以判断指示剂的色泽改变,可能使实验结果出现误差。在本实验中,凡是色泽较深且稀释浓度在 7.81 mg/mL 时(此时煎剂的颜色已不明显)仍不能抑制 Uu 生长者均被认为对 Uu 无抑制作用。还有一些中药加入培养基后常出现混浊和沉淀,也影响实验结果,我们不将其作为筛选对象,如五倍子等。由于中草药的药性不同,有些药物具有脂溶性,其水煎剂的有效成份可能偏低。此外,接种菌量、孵育时间和 Uu 株的地域性差异,也可能对中药的药敏结果产生影响。故 Uu 的药敏试验^[3]需要进一步研究。

参考文献

- [1]Wong ES, Stamm WE. Urethral infection in men and wom-en[J]. Amu Rev Med, 1983, 34: 337
- [2]周邦靖, 张友菊, 张晓玲. 148 种中药对淋球菌抗菌作用的实验观察[J]. 浙江中医杂志, 1992, 27: 370
- [3]周邦靖. 常用中药的抗菌作用及其测定方法·重庆: 科学技术文献出版社重庆分社, 1987. 25
- [4]吴志华. 现代性病学[M]. 广州: 广东人民出版社, 1996: 130

(收稿日期: 2005-12-12)