

## 清肺消炎丸体外抗菌活性研究

白芳<sup>1</sup>, 荣子丹<sup>2</sup>, 白钢<sup>1</sup>, 侯媛媛<sup>1</sup>

1. 南开大学药学院, 天津 300071

2. 天津中新药业集团股份有限公司 达仁堂制药厂, 天津 300457

**摘要:** **目的** 观察清肺消炎丸对9种肺炎常见病原菌的体外抗菌作用。**方法** 采用琼脂稀释法, 测定清肺消炎丸对9种药敏质控菌株的最低抑菌浓度(MIC)及最低杀菌浓度(MBC)。**结果** 清肺消炎丸对肺炎链球菌、化脓性链球菌、金黄色葡萄球菌、流感嗜血杆菌的MIC分别为6.25、25、25、50 mg/mL, 相应的MBC分别为12.5、25、50、50 mg/mL; 对大肠杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、变形杆菌及白色念珠菌均无明显体外抑菌活性。**结论** 清肺消炎丸对肺炎链球菌、化脓性链球菌、金黄色葡萄球菌、流感嗜血杆菌具有体外抗菌作用, 其中对链球菌的抗菌活性较高。

**关键词:** 清肺消炎丸; 最低抑菌浓度; 最低杀菌浓度

中图分类号: R978.19

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2012)02-0106-03

## Antibacterial activity of Qingfei Xiaoyan Pills *in vitro*

BAI Fang<sup>1</sup>, RONG Zi-dan<sup>2</sup>, BAI Gang<sup>1</sup>, HOU Yuan-yuan<sup>1</sup>

1. College of Pharmacy, Nankai University, Tianjin 300071, China

2. Tianjin Zhongxin Pharmaceutical Group Co., Ltd., Darentang Pharmaceutical Factory, Tianjin 300457, China

**Abstract: Objective** To study the antibacterial effect of Qingfei Xiaoyan Pills. **Methods** By using test agar plates serial dilution method, the minimum inhibition concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) of different dilution degrees of Qingfei Xiaoyan Pills on *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus bacillus vulgaris*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyogenes*, and *Candida albicans* were determined.

**Results** The MICs of Qingfei Xiaoyan Pills to *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, and *Haemophilus influenzae* were 6.25, 25, 25 and 50 mg/mL, respectively, while the MBCs were 12.5, 25, 50 and 50 mg/mL, respectively.

**Conclusion** Qingfei Xiaoyan Pills could effectively inhibit *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* and *Haemophilus influenzae*. Among them, Qingfei Xiaoyan Pills are more effective for *Streptococcus*.

**Key words:** Qingfei Xiaoyan Pills; minimum inhibition concentration (MIC); minimal bactericidal concentration (MBC)

由于抗生素的不合理使用, 临床耐药细菌、真菌菌株不断增加, 致使临床感染死亡率不断增高。中药由于其特殊性, 细菌较少对其产生耐药, 在现代预防和控制细菌性感染疾病方面发挥了积极的作用<sup>[1]</sup>。清肺消炎丸是在医圣张仲景《伤寒论》中的治咳平喘经方——麻杏石甘汤的基础上由研究者认真研究、删繁就简而成, 具有化痰、止咳、平喘的功效, 既能宣通, 又清内热, 对咳、痰、喘疗效显著。临床上主要用于痰热阻肺, 咳嗽气喘, 胸胁胀痛, 吐痰黄稠; 上呼吸道感染, 急性支气管炎, 慢性支气管炎急性发作及肺部感染见上述证候者<sup>[2]</sup>。

清肺消炎丸由于其良好的药理活性, 在临床上被广泛应用, 但其体外抗菌类型及抗菌活性尚不够明确。本研究选取导致医院内获得性肺炎的常见病原微生物, 开展清肺消炎丸的体外抗菌作用研究, 旨在为其临床应用提供一定的理论依据。

### 1 材料

#### 1.1 受试药物

清肺消炎丸全粉(批号L033)由天津达仁堂制药厂提供。

#### 1.2 受试菌株

药敏试验质控菌株: 金黄色葡萄球菌 *Staphylo-*

收稿日期: 2011-11-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21002052); 天津市应用基础及前沿技术研究计划(10JCYBJC14300)

作者简介: 白芳(1980—), 女, 回族, 讲师。E-mail: baifang1122@nankai.edu.cn

\*通讯作者 侯媛媛 E-mail: houyy@nankai.edu.cn

*coccus aureus* (ATCC 25923), 铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), 肺炎克雷伯菌 *Klebsiella pneumonia* (ATCC 700603), 肺炎链球菌 *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619), 大肠埃希氏菌 *Escherichia coli* (ATCC 25922), 变形杆菌 *Proteus bacillus vulgaris* (ATCC 12453), 流感嗜血杆菌 *Haemophilus influenza* (ATCC 49247), 化脓性链球菌 *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615), 白色念珠菌 *Candida albicans* (ATCC 90029) 均购自上海复祥生物科技有限公司。

**1.3 培养基**

根据美国临床实验室标准化委员会 (NCCLS) 抗菌药物敏感性试验操作标准, 采用 Mueller-Hinton (MH) 琼脂, MH 肉汤, 流感嗜血杆菌使用 *Haemophilus test medium* (HTM) 基础琼脂及添加剂 SR158E, 均为 OXOID 公司产品。

**2 方法**

**2.1 最低抑菌浓度 (MIC) 的测定<sup>[3-4]</sup>**

**2.1.1 含药琼脂平板制备** 分别配制药物质量浓度为 100、50、25、12.5、6.25、3.13 mg/mL 的琼脂平板。肺炎链球菌和化脓性链球菌使用含 5% 脱纤维绵羊血的 MH 琼脂; 白色念珠菌使用含 2% 葡萄糖和 0.5 mg/L 亚甲蓝的 MH 琼脂; 流感嗜血杆菌使用补充 0.4% SR158E 添加剂的 HTM 基础琼脂; 其他菌株使用 MH 琼脂, 按商品说明书进行配制, pH 7.2~7.4。将配制好的培养基于 121 °C 高压灭菌 15 min, 待冷却至 50 °C 左右, 于超净工作台中补充添加成分, 充分混匀, 倾倒入无菌平皿, 琼脂厚度 3~4 mm。

**2.1.2 接种物制备与接种** 受试菌株经活化后, 挑选典型菌落接种于普通肉汤琼脂培养基上, 经

37 °C 培养 18~24 h, 连续传代 3 次, 取其菌落用 MH 肉汤培养基配制成 0.5 麦氏比浊标准的菌悬液, 再以 1:10 稀释, 以微量移液器吸取制备好的菌液 (约 1~2 μL) 接种于琼脂平板表面, 每点菌数约为 10<sup>4</sup> CFU, 形成直径为 3~5 mm 的菌斑。接种好后置普通空气孵箱中 35 °C 孵育 16~24 h (流感嗜血杆菌需孵育 24~48 h), 观察结果。流感嗜血杆菌、肺炎链球菌及化脓链球菌置 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中孵育。

**2.1.3 结果判断** 在读取受试菌株的 MIC 前, 应检查阳性对照 (以接菌不含药平板为阳性对照) 细菌生长情况是否良好, 同时还应检查接种物的传代培养情况以确定其是否污染, 质控菌株的 MIC 值是否处于质控范围。以肉眼观察, 药物最低浓度平板无细菌生长者, 即为受试菌的 MIC。

**2.2 最低杀菌浓度 (MBC) 的测定**

参照相关文献<sup>[5-6]</sup>, 含药琼脂平板制备同“2.1.1”项下方法, 取培养 18~24 h 的菌落配制成 0.5 麦氏比浊标准的菌悬液, 再以 1:100 稀释, 取 100 μL 菌液涂布于相应的琼脂平板上, 经 37 °C 培养 16~24 h, 以未见细菌生长的最低药物浓度为清肺消炎丸对该受试菌的 MBC。

**3 结果**

**3.1 清肺消炎丸 MIC 的测定**

如表 1 所示, 清肺消炎丸对肺炎链球菌、化脓性链球菌、金黄色葡萄球菌和流感嗜血杆菌具有显著的体外抗菌作用, 对应的 MIC 分别为 6.25、25、25、50 mg/mL。清肺消炎丸对铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、变形杆菌及白色念珠菌均无显著抑菌活性。

表 1 清肺消炎丸对 9 株肺炎致病菌的 MIC 测定

Table 1 MIC results of Qingfei Xiaoyan Pills on nine strains of pneumonia pathogens

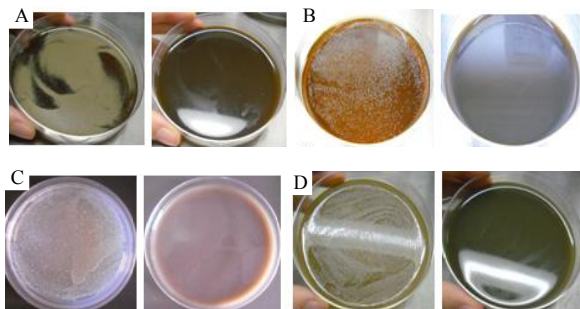
质量浓度/ (mg·mL <sup>-1</sup> )	细菌生长情况								
	肺炎链 球菌	化脓性 链球菌	金黄色葡 萄球菌	流感嗜 血杆菌	铜绿假 单胞菌	肺炎克 雷伯菌	大肠埃 希氏菌	变形 杆菌	白色 念珠菌
100	—	—	—	—	+	++	+	+	++
50	—	—	—	—	++	++	++	++	++
25	—	—	—	+	++	++	++	++	++
12.5	—	+	+	+	++	++	++	++	++
6.25	—	++	++	++	++	++	++	++	++
3.13	+	++	++	++	++	++	++	++	++
0	++	++	++	++	++	++	++	++	++

“—”为无菌生长, “+”为少量菌体生长, “++”为菌体生长旺盛, 下表同

“—” refers to no microbe growth, “+” refers to a small amount of microbe growth, “++” refers to vigorous growth of microbe, same as below

### 3.2 清肺消炎丸 MBC 的测定

对肺炎链球菌、化脓性链球菌、金黄色葡萄球菌和流感嗜血杆菌进一步进行了 MBC 的测定。清肺消炎丸对肺炎链球菌、化脓性链球菌、金黄色葡萄球菌和流感嗜血杆菌具有杀菌作用 (图 1), 其 MBC 分别为 12.5、25、50、50 mg/mL, 结果见表 2。



左: 阳性对照; 右: 相应 MBC 浓度平板

Left: positive control; Right: test plate with MBC

图 1 清肺消炎丸对肺炎链球菌 (A)、化脓性链球菌 (B)、金黄色葡萄球菌 (C)、流感嗜血杆菌 (D) 的 MBC 测定

Fig. 1 MBC assay of Qingfei Xiaoyan Pills against *Streptococcus pneumoniae* (A), *Streptococcus pyogenes* (B), *Staphylococcus aureus* (C) and *Haemophilus influenzae* (D)

表 2 清肺消炎丸对 4 株肺炎致病菌的 MBC 测定

Table 2 MBC results of Qingfei Xiaoyan Pills on four strains of pneumonia pathogens

菌名	细菌生长情况	MBC/(mg·mL <sup>-1</sup> )
肺炎链球菌	—	12.5
化脓性链球菌	—	25
金黄色葡萄球菌	—	50
流感嗜血杆菌	+	50

### 4 讨论

清肺消炎丸是一种由麻黄、石膏、地龙、牛蒡子、葶苈子、牛黄、苦杏仁 (炒)、羚羊角 8 味中药材组成的制剂, 具有良好的消炎、平喘的药理活性, 在临床上被广泛应用。中成药具有成分复杂、多样的特点, 为了确保实验结果的真实、可靠, 避免药物有效成分丢失, 本实验采用琼脂稀释法测定清肺消炎丸的抗菌活性。琼脂稀释法是将不同剂量的抗菌药物加入定量 MH 琼脂中, 制成含递减浓度抗菌药物的平板, 接种受试菌, 孵育后观察细菌生长情况, 以抑制细菌生长的琼脂平板所含最低药物浓度为 MIC。本方法优点在于, 琼脂平板中包含清肺消炎丸的全部成分, 避免了提取过程中有效成分的丢

失, 可在一个平板上同时作多株菌 MIC 测定, 结果可靠, 且易发现污染菌。

本实验结果表明清肺消炎丸的确具有一定的体外抗菌活性。清肺消炎丸对受试的革兰阳性菌均具有较强的抗菌作用, 其中对链球菌的抗菌活性最强, MIC 值  $\leq 25$  mg/mL。对金黄色葡萄球菌具有较强的抗菌作用, MIC 值 = 25 mg/mL, 比林氏咽宁散 (MIC = 100 g/mL) 和川椒丸 (MIC = 200 mg/mL) 的抗菌活性强 4~8 倍<sup>[5,7]</sup>。金黄色葡萄球菌是引起多种化脓性感染最常见的致病菌之一, 对其耐药性的报道较多, 闫小娟等<sup>[8]</sup>报道了 6 种常用抗菌中药黄连、苦参、连翘、大黄、生地、知母对金黄色葡萄球菌的 MIC, 其中黄连、大黄和连翘对其表现出一定程度的体外抑菌作用, MIC 值依次为 6.25、50、50 mg/mL。

清肺消炎丸对革兰阴性菌的抑菌活性较差, 对流感嗜血杆菌有一定的抑菌作用, MIC 值 = 50 mg/mL; 而对于大肠杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌和变形杆菌无明显抑菌作用, MIC 值 > 100 mg/mL; 对真菌白色念珠菌无明显抑菌作用, MIC 值 > 100 mg/mL, 提示清肺消炎丸可能通过抑制或杀灭细菌从而达到消炎的目的, 为其临床应用提供了可靠的实验依据, 为进一步阐明其治疗上呼吸道感染, 气管炎及肺部感染的作用机制奠定良好的基础。

### 参考文献

- [1] 李好好, 马琳. 中药抑菌作用的研究 [J]. 长春中医药大学学报, 2010, 26(1): 136-137.
- [2] 赵晓敏. 清肺消炎丸联合西药治疗小儿病毒性肺炎临床观察 [J]. 中草药, 2007, 38(9): 1384-1385.
- [3] 陈奇, 卞如濂, 陈修. 中药药理研究方法学 [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
- [4] 张卓然. 医学微生物实验学 [M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [5] 邹瑾, 刘巧灵, 尹进. 川椒丸体外抑菌实验影响的研究 [J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(9): 1930-1931.
- [6] 施贵荣, 肖培云, 刘光明. 喙尾琵琶甲提取物体外抗菌作用初步研究 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3): 622-623.
- [7] 张敏. 林氏咽宁散体外抗金黄色葡萄球菌实验 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(2): 360-361.
- [8] 闫小娟, 张静玲, 杨敬芳, 等. 6 种抗菌中药对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抑菌作用 [J]. 中国热带医学, 2009, 9(2): 219-220.