临床研究 文章编号:0253-3626(2009)10-1409-02

中药桂皮醛对口腔致龋菌的体外抑菌活性研究

杨 霞[1],黄 萍[2],李丛华[1]

(1.重庆医科大学附属口腔医院口腔内科教研室,重庆 400015,2.四川大学华西口腔医学院牙周科,成都 610041)

【摘 要】目的:探讨桂皮醛对主要致龋菌的抗菌活性。方法:采用琼脂稀法药敏敏感试验,测定桂皮醛对主要致龋菌的最小抑菌浓度(Minimal inhibitive concentration,MIC)和最小杀菌浓度(Minimal bacterecdal concentration,MBC)。结果:桂皮醛能明显抑制分离的 50 株临床株,其 MIC 值在(32 ~ 256) mg/L 之间,微荣球菌(V.parvula)的平均最低抑菌浓度为(139.000 ± 0.026) mg/L;丙酸杆菌(P.propionicum)的平均最低抑菌浓度为(128.000 ± 0.000) mg/L;颊纤毛菌(L.buccalis)的平均最低抑菌浓度为(213.000 ± 0.027) mg/L;变形链球菌(S.mutans)的平均最低抑菌浓度为(213.00 ± 0.021) mg/L;粘性放线菌(A.viscosus) 的平均最低抑菌浓度为(148.00 ± 0.021) mg/L。

【关键词】致龋菌;桂皮醛;琼脂稀释法;MIC

【中国图书分类法分类号】R780.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-12-29

Antibacterial activities of Chinese medicine cinnamicaldehyde against main periodontal pathogens

YANG Xia, et al

(*Department of Medicine, the Affiliated Stomatology Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To evaluate the antibacterial activity of cinnamicaldehyde against the main periodontal pathogens in vitro. *Methods*: Agar dilution method for antimicrobial susceptibility testing was used to determine the minimal inhibitive concentration (MIC) of cinnamicaldehyde against the main periodontal pathogen. *Results*: The growth of 50 bacteria were inhibited completely by cinnamicaldehyde; the MIC of it on V.parvula were(139.000 ± 0.026) mg/L and on P.propionicum were(128.000 ± 0.000) mg/L; the MIC of it on L.buccalis were (213.000 ± 0.027) mg/L, the MIC of S.mutans were(213.000 ± 0.021) mg/L,he MIC of A.viscosus were(148.000 ± 0.021) mg/L。 *Conclusion*: Cinnamicaldehyde has significant antibacterial activities on the main periodontal pathogens.

【Key words】Periodontal pathogen; Cinamicaldehyde; Agar-dilution; MIC

中药肉桂是一种新发现的对 G-厌氧菌和真菌有明显抑制作用的中草药。中药肉桂含桂皮油 1%~2%, 桂皮油是从天然植物樟树叶中提炼出来的,其主要成分是桂皮醛。桂皮醛抗厌氧菌的特点[1,2],以及其低毒性等优点[3],作为治疗口腔疾病的局部用药,有很大的研究前景。本实验采用 NCCLS 推荐的琼脂稀释法药敏试验,粘性放线菌(A.viscosus ATCC15987)变形链球菌(S.mutans ATCC25175)以及临床分离株细菌作为实验菌株,测定桂皮醛对它们的体外抗菌活性,从而为它作为龋病治疗药物提供参考。

作者介绍:杨 霞(1976-),女,硕士,主治医师,研究方向:牙周病病因及防治。

通讯作者:李丛华,男,主治医师,E-mail:liconghua1@163.com。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品桂皮醛 上海市医药公司提供,批号 940915,比重(1.049 ~ 1.053)。

1.1.2 实验菌株 粘性放线菌(A.viscosus ATCC15987)变形链球菌(S.mutans ATCC25175)(均由卫生部口腔生物医学工程重点实验室提供);临床分离株:微荣球菌(V.parvula);丙酸杆菌(P.propionicum);颊纤毛菌(L.buccalis);变形链球菌(S.mutans);粘性放线菌(A.viscosus)。

1.1.3 培养基 牛心脑浸液培养基(BHI)(法国 Biom é rieux 公司)用前加入氯化血红素及维生素 K1(BHI-S)。

1.1.4 主要实验仪器 DY-2 型厌氧培养箱(浙江义乌冷冻机械厂生产)。

1.2 方法

1.2.1 菌液制备 刮取患者牙面菌斑,旋涡振荡法分散标本中的菌斑团块,用磷酸盐缓冲液按 10 倍系列稀释法稀释,取 10 μl 样本液接种于 BHI-S 培养基,无菌三角推棒均匀涂布

于琼脂平板表面，置于 37℃的厌氧培养箱（80%N_2、10%H_2、10%CO_2 的大气条件）中培养 3～5 d，细菌分离培养鉴定后，保存菌种。将复苏纯化后的细菌用 BHI-S 液体培养基制成实验菌液，校正细菌密度为 1×10^8 CFU/ml。

1.2.2 含药平板配制 对倍稀释法将桂皮醛稀释配制成以下 6 种浓度的药物平板：512、256、128、64、32、16 mg/L；阴性对照平板是不加菌液的 BHI-S 平板，阳性对照平板是不加药液的 BHI-S 平板。

1.2.3 抑菌环实验 取 1×10^8 CFU/ml 的具核梭杆菌菌液 10 μl，在 BHI—S 培养基上推匀，无菌打孔器在琼脂平板上打孔并取出孔内的琼脂，将不同浓度的药液注入孔内，37℃厌氧培养 48 h，测量抑菌环。

1.2.4 测量最小抑菌浓度（Minimal inhibitive concentration，MIC）和最小杀菌浓度（Minimal bacteriecidal concentration，MBC） 取菌液和不同浓度的药液各 1 ml 于无菌试管中，37℃厌氧培养 48 h，观察能抑制细菌生长的最高稀释浓度，即为 MIC；用接种环取试管中的培养物于 BHI-S 血琼脂平板上，观察无细菌生长的最低浓度为 MBC。

1.2.5 细菌接种浓度对 MIC 值的影响 制备 1×10^8 CFU/ml 和 1×10^6 CFU/ml 2 种密度菌液，各取 5 μl 点种于不同浓度桂皮醛琼脂平板上，厌氧培养 48 h 观察结果。药敏实验方法同上

2 结 果

临床龋病患者的牙面菌斑中一共分离出 50 株细菌，微荣球菌（V.parvula）；丙酸杆菌（P.propioni cum）；颊纤毛菌（L.buccalis）；变形链球菌（S.mutans）；粘性放线菌（A.viscosus）。

2.1 桂皮醛对标准菌株的 MIC

见表 1。

2.2 不同临床分离株的 MIC 值（表 2）

实验发现中药桂皮醛对从临床龋病患者中分离出的菌株均有抑制作用，其 MIC 值在（32～256）mg/L 之间，当药物浓度为 512 mg/L 时，能抑制所有临床株细菌的生长。

3 讨 论

龋病是发生于人类最常见的细菌性疾病。多年来人们一直试图采用药物控制或预防龋病。早期采用的抗生素类如青霉素、红霉素、四环素或螺旋霉素等，虽具有一定的防龋效果，但长期使用可引起口腔和肠道菌群失调而导致其他疾病。因此，

表 1 桂皮醛对 4 种细菌的抑菌试验结果（单位：mg/L）

药物浓度	A.viscosus	S.mutans
512	−	−
256	−	−
128	−	−
64	−	+
32	+	+
16	+	+
阳性对照	+	+

注：+. 表示有细菌生长；−. 表示无细菌生长

表 2 各临床株细菌的 MIC 均数值（单位：mg/L）

细菌	MIC 均值
A.viscosus	148 ± 0.021
V.parvula	139 ± 0.026
S.mutans	213 ± 0.021
L.buccalis	213 ± 0.027
P.propionicum	*128 ± 0.000*

寻找一种使用安全，能有效调理口腔菌群平衡的防龋药物成为研究的重点。天然植物防龋的研究受到了众多学者的关注。

变形链球菌、粘性放线菌、乳杆菌被认为是最重要的致龋菌[4]，它们通过对牙面的粘附，形成牙菌斑，使牙齿产生龋坏，因此抑制和杀灭致龋菌对预防龋齿具有重要的作用。在以往的实验证明桂皮醛对口腔细菌有很强的抑制作用[5]，可以用于口腔感染性疾病的治疗。王文凤[1]对桂皮醛抗厌氧菌作用的研究发现 76%的试菌株其 MIC<128 mg/L；桂皮醛浓度为 256 mg/L 时，其抑菌率达 96.7%，并且发现脆弱拟杆菌和产黑色素厌氧杆菌等 G- 厌氧杆菌对桂皮醛较敏感。桂皮醛来自天然植物，并且其毒副作用较低，桂皮醛经常用于食物的消毒和防腐，以及化妆品芳香添加剂。桂皮醛与细菌作用后，细菌结构被破坏，细菌的 DNA、RNA、蛋白质、细胞壁及细胞膜的生物合成均受到抑制。有实验证明[1]桂皮醛对细菌作用后，在光学显微镜下，可见到细菌形态发生变化，桂皮醛可能影响厌氧菌细胞壁的形成。桂皮醛属于醛类物质，极易通过生物细胞的细胞膜，在细胞内起作用，并且醛基易与菌体蛋白质作用，影响细菌的生长[6]。

本实验用主要致龋菌国际标准株和临床分离株测定桂皮醛的抑菌作用及抗菌活性发现，桂皮醛对微荣球菌（V.parvula）；丙酸杆菌（P.propionicum）；颊纤毛菌（L.buccalis）；变形链球菌（S.mutans）；粘性放线菌（A.viscosus）等菌株有抑制作用，其 MIC 值在（32～256）mg/L 之间，当药物浓度为 512 mg/L 时，能抑制所有临床株细菌的生长，当药物浓度为 256 mg/L 时，能抑制 82%的细菌生长。并且接种菌液的浓度对桂皮醛的抑菌性没有明显影响。实验数据都表明桂皮醛有很强的抑制致龋菌的能力，为桂皮醛作为预防龋病的临床药物提供了理论依据。

参 考 文 献

[1] 王文凤，陈聪敏，赵文儒，等，抗厌氧菌中草药的系列研究[J].中国微生态学杂志，1990，2(1)：7-10.

[2] Chang S T, Chen P F, Chang S C. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from Cinnamomum osmophloeum[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2001, 7(1): 123-127.

[3] Hooth M J, Sills R C, Burka L T. Toxicology and carcinogenesis studies of microencapsulated trans-cinnamaldehyde in rats and mice[J]. Food and Chemical Toxicology, 2004, 42(2): 1757-1768.

[4] 刘天佳. 口腔疾病的微生物基础[M].第 1 版. 北京：人民卫生出版社，1999.42-65.

[5] 王世仪，张 丽，王 冰，等. 中药桂皮醛对感染根管消毒作用的研究[J]. 中国微生态学杂志，2000，12(6)：369-371.

[6] 谭龙飞，宁正祥. 肉桂中醛、酸类化合物结构与抗菌活性的关系[J].广州化学，1996，16(2)：32-37.

（责任编辑：冉明会）