DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.13.016
第26卷第13期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 13
2004年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2004

文章编号:1000-5404(2004)13-1169-02

论著

茶树油灭活脊髓灰质炎病毒的试验观察

王 懿,王振维 (第三军医大学医学检验系分析化学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 观察茶树油(tea tree oil, TTO)对脊髓灰质炎病毒(poliovirus, PV)的杀灭效果,了解TTO对病毒的灭活能力。方法 根据消毒技术规范指定的方法,采用细胞感染试验测定病毒与各浓度TTO溶液作用前后感染细胞的滴度。结果 0.5%TTO作用40 min和60 min能分别灭活PV 4.33 log10和5.5 log10;1.0%TTO作用40 min和60 min能灭活PV 5.33 log10和5.5 log10。结论 TTO对悬液中的PV有明显的杀灭作用。

关键词:茶树油(TTO);脊髓灰质炎病毒;抗病毒活性
中图法分类号:R187.1;R282.71;R373.22 文献标识码:A

Experimental observation of the inactivating effect of tea tree oil on poliovirus

WANG Yi, WANG Zhen-wei (Department of Analytical Chemistry, College of Medical Laboratory, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To evaluate the virucidal efficacy of tea tree oil (TTO) on poliovirus (PV). Methods According to the Technical Standard For Disinfection, the PV-inactivating capacity of TTO was objectively detected by cell infection method before and after treatment of the virus with different concentrations of TTO. Results A 4.33 log10 titre reduction and a 5.5 log10 titre reduction of PV could be obtained with 0.5% TTO for 40 and 60 min, respectively; and a 5.33 log10 titre reduction and a 5.5 log10 titre reduction could be obtained with 1.0% TTO for 40 and 60 min, respectively. Conclusion TTO has obvious inactivating effect on PV *in vitro*.

Key words: tea tree oil; poliovirus; antiviral activity

茶树油(tea tree oil, TTO)是一种香精油,萃取自一类桃金娘科白千层属植物(*Melaleuca alternifolia*)——茶树(tea tree)。TTO被认为具有广谱抗微生物[1]和抗炎活性[2]。TTO中主要含有4-萜品醇(terpinen-4-ol)、1,8-桉油素(1,8-cineole)和α-萜品醇(α-terpineol)等化合物[3]。近几年,对TTO抗菌活性已进行了较为细致的研究,而对其抗病毒活性还研究得相对较少,目前作者只见到有关TTO对单纯疱疹病毒抗病毒效果的报道[4~6]。脊髓灰质炎病毒(poliovirus, PV)较其它病毒具有更强的抵抗力,常用来观察消毒剂对病毒的灭活能力和反映消毒剂的抗病毒活性。因此,作者在实验中观察了TTO对PV的杀灭效果,进一步了解TTO的抗病毒活性以及初步认识TTO开发成为消毒产品或外用抗病毒药物的可行性。

基金项目:重庆市科委攻关资助项目(2002-13-6-5)
Supported by the Sci &Tech Research Project Foundation of Scientific Committee of Chongqing (2002-13-6-5)
作者简介:王 懿(1979-),男,重庆市人,硕士研究生,主要从事天然药物的研究与开发方面的研究。电话:(023)68772282
收稿日期:2004-03-03;修回日期:2004-06-18

1 材料与方法

1.1 试剂

TTO产自重庆涪陵地区。经气相色谱分析TTO的组成,其主要成分含量:4-萜品醇25.5%、γ-萜品烯(γ-terpinene)17.2%、α-萜品烯(α-terpinene)11.4%、1,8-桉树素9.1%、萜品油烯(terpinolene)3.5%、α-萜品醇3.5%、α-松萜(α-pinene)2.9%、ρ-伞花烃(ρ-cymene)1.8%。

TTO中加入95%的乙醇(终浓度为1.0%v/v),Tween80(终浓度为1.5%v/v)和双蒸水。TTO稀释后浓度为2.0%、1.0%、0.5%和0.1%。细胞培养液1640和小牛血清由北京宝生物有限公司提供。Hanks液主要成分为8%氯化钠、0.4%氯化钾、0.06%含水磷酸氢二钠、0.06%磷酸二氢钾和0.35%碳酸氢钠(pH 7.2~7.4)。中和剂主要成分为2.0%卵磷脂、2.0% Tween80、0.5%硫代硫酸钠。

1.2 细胞与病毒

脊髓灰质炎病毒由中国医学科学院病毒研究所提供。$HepG_2$细胞由重庆市疾病控制中心提供。

1.3 中和剂选择试验

按照消毒技术规范[7]的要求,以PV作为试验病毒,制备悬液。选取2.0%的TTO溶液。按中和剂选择试验规范方法,设计

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

6 个试验组(表 1),计算病毒滴度后进行分析。试验重复 2 次。

1.4 悬液杀病毒试验

用适当细胞培养液稀释 PV,使病毒悬液的浓度约为 10^7 半数细胞感染剂量($TCID_{50}$)。将浓度为 1.0%、0.5%和 0.1%的 TTO 制剂 0.8 ml 分别加入 0.2 ml 含病毒液中,混匀。经 10、20、40 min 和 60 min 处理后分别取混合液 0.1 ml,用 0.9ml 中和剂中和,再吸取混合液进行病毒滴度测定。同时用 D-Hank 液替代 TTO 溶液处理病毒液作为对照。试验重复 2 次。

2 结果

2.1 中和剂试验结果

本试验选用的中和剂经设定的 6 组试验观察,其结果符合消毒剂鉴定技术规范的要求(表 1)。

表 1 TTO 溶液中和剂试验结果

Tab 1 Results of neutralization test for tea tree oil

Group	PV titre($TCID_{50}$)
Disinfectant+virus suspension	$10^{1.0}$
(Disinfectant+virus suspension)+neutralizer	$10^{2.0}$
Neutralizer+virus suspension	$10^{6.0}$
(Disinfectant+neutralizer)+virus suspension	$10^{5.0}$
Hank's+virus suspension(positive control)	$10^{6.0}$
Hank's+cell suspension(negative control)	0

The titre of test virus was $10^{6.5}$ $TCID_{50}$ for PV

2.2 TTO 对病毒的杀灭效果

TTO 对悬液中的PV 病毒有明显的杀灭作用。0.5%TTO 作用40 min 和 60 min 能灭活 PV 4.33 log10 和 5.5 log10;1.0%TTO 作用 40 min 和 60 min 能灭活 PV 5.33 log10 和 5.5 log10(表 2)。

表 2 TTO 溶液对 PV 的灭活效果

Tab 2 Inactivating effect of tea tree oil against poliovirus

Concentration of TTO (v/v) (%)	PV titre($TCID_{50}$) after exposure for different periods of time(min)			
	10	20	40	60
1.0	3.65	3.5	0.0	0.0
0.5	4.5	3.33	1.0	0.0
0.1	5.33	3.65	3.0	2.5
0.0	5.5	5.5	5.33	5.5

3 讨论

TTO 的抗病毒活性在很早以前就被人们有所认识,但直到现在这方面研究还相对较少,而且也只限于对少数的病毒种类。例如 Schnitzler 等[4] 证实 TTO 对单纯疱疹病毒(HSV-1 和 HSV-2)有很好的抗病毒活性。Carson 等[5] 实验结果显示 6%TTO 凝胶可以用来治疗复发性唇疱疹。由于 PV 的抵抗力较强,一般用作验证消毒剂对病毒污染物消毒的实用剂量,以了解消毒剂对病毒的消毒能力。作者在试验中选用 PV,也为进一步了解 TTO 抗病毒活性的大小,而且对 TTO 能否作为消毒剂或者外用抗病毒药物有一个初步的认识。实验结果显示出各浓度的 TTO 溶液均引起悬液中的病毒滴度降低,TTO 的浓度越高,作用的时间越长,表现出的抗病毒活性越强,说明 TTO 对 PV 有很好的杀灭作用。这也暗示 TTO 对其他有包膜病毒也可能存在很好的抗病毒活性。实验中 0.5%TTO 作用 40 min 能灭活 PV 4.33 log;1.0%TTO 作用 40 min 能灭活 PV 5.33 log。这一结果显示出 0.5%和 1.0%的 TTO 溶液对病毒要达到要求的灭活滴度,与病毒的作用时间较长,不适宜用作快速消毒,但可以用于外用抗病毒药物或者其他用途。然而,增加 TTO 的浓度会缩短与病毒的作用时间,从而提高 TTO 的消毒能力。因此,今后仍需要进一步验证 TTO 的消毒能力。而且还需要在实验中选用其他种类的病毒,深入观察其抗病毒活性。

总之,在实验中 TTO 对悬液中的 PV 有明显的杀灭作用,进一步证实了 TTO 具有很好的抗病毒活性,也说明了 TTO 有很好的应用前景。然而,将 TTO 应用于消毒用品或者外用抗病毒药物之前,还必须进行大量的研究工作,需要找到适合 TTO 的剂型,并且还要对其有效性和安全性进行一系列的实验。

参考文献:

[1] May J, Chan C H, King A, *et al*. Time-kill studies of tea tree oils on clinical isolates[J]. J Antimicrob Chemother, 2000, 45(5): 639-643.

[2] Brand C, Ferrante A, Prager R H, *et al*. The water-soluble components of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil) suppress the production of superoxide by human monocytes, but not neutrophils, activated *in vitro*[J]. Inflamm Res, 2001, 50(4): 213-219.

[3] Cox S D, Mann C M, Markham J L. Interactions between components of the essential oil of Melaleuca alternifolia[J]. J Appl Microbiol, 2001, 91(3): 492-497.

[4] Schnitzler P, Schon K, Reichling J. Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture[J]. Pharmazie, 2001, 56(4): 343-347.

[5] Carson C F, Ashton L, Dry L, *et al*. Melaleuca alternifolia (tea tree) oil gel (6%) for the treatment of recurrent herpes labialis[J]. J Antimicrob Chemother, 2001, 48(3): 450-451.

[6] Minami M, Kita M, Nakaya T, *et al*. The inhibitory effect of essential oils on herpes simplex virus type-1 replication *in vitro*[J]. Microbiol Immunol, 2003, 47(9): 681-684.

[7] 佟 颖, 邓小虹, 石伟先, 等. 消毒剂灭活流感病毒方法的探讨[J]. 中华医院感染学杂志, 2003, 13(3): 201-203.

(编辑 张大春)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net