

河北产蜂胶提取液对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌的体外抑菌作用研究^Δ

张芳英*, 穆丽娟, 杨继章#, 张 征, 杨树民(河北医科大学第一医院, 石家庄 050031)

中图分类号 R285;R37 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)19-1742-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.19.05

摘要 目的: 研究河北产蜂胶不同溶剂提取液对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌的体外抑菌作用。方法: 采用微量板法对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌进行培养, 分别加入不同溶剂(95%乙醇、75%乙醇、纯化水)提取的蜂胶溶液, 观察抑菌效果, 测定最低抑菌浓度(MIC)。结果: 蜂胶95%乙醇提取液对金黄色葡萄球菌与表皮葡萄球菌的MIC均为256 μg/ml; 蜂胶75%乙醇提取液对金黄色葡萄球菌与表皮葡萄球菌的MIC均为128 μg/ml; 蜂胶水提取液对金黄色葡萄球菌与表皮葡萄球菌均无抑菌作用。结论: 河北产蜂胶醇提取液对痤疮主要致病菌有较好的体外抑菌效果, 蜂胶75%乙醇提取液的抑菌效果优于蜂胶95%乙醇提取液。

关键词 蜂胶; 金黄色葡萄球菌; 表皮葡萄球菌; 最低抑菌浓度

Bacteriostatic Action of Propolis Extract from Hebei Province against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* in vitro

ZHANG Fang-ying, MU Li-juan, YANG Ji-zhang, ZHANG Zheng, YANG Shu-min(The First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the antibacterial activities of propolis extract from Hebei province on the *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* in vitro. METHODS: *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* were cultured by microplating method, and propolis solution was extracted with different solvents (95% ethanol, 75% ethanol, purified water). The bacteriostatic action of propolis extract was observed, and MIC was determined. RESULTS: The MIC of propolis extracted by 95% ethanol against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* were 256 μg/ml; the MIC of propolis extracted by 75% alcohol against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* were 128 μg/ml; water extracts had no bacteriostatic action against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. CONCLUSIONS: Ethanol extracts of propolis from Hebei province show satisfactory bacteriostatic action against the major pathogenic bacteria of acne, and propolis extracted by 75% ethanol have better bacteriostatic action than propolis extracted by 95% ethanol.

KEY WORDS Propolis; *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus epidermidis*; MIC

蜂胶(Propolis)是蜜蜂从植物芽苞或树干上采集的树脂混入蜜蜂上腭腺和蜂蜡后加工制成的树脂状固态物质, 其含有大量的生物活性物质, 化学组成较为复杂。有文献报道^[1-2], 蜂胶具有抗病原微生物、抗氧化、抗肿瘤、防治肝病等作用, 蜂胶在民间医药中有着久远的应用历史, 临床用于治疗鸡眼、带状疱疹、扁平疣、毛囊炎以及烧烫伤、创伤等, 取得了满意效果^[3]。痤疮为常见的皮脂腺疾病, 90%以上的青春期男女有不同程度的痤疮发生。痤疮的常见致病菌是金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌, 本课题组从河北产蜂胶不同溶剂提取液对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌的抑菌作用的研究入手, 旨在探讨蜂胶提取液治疗痤疮的可行性。

1 材料

1.1 仪器

DH3600AB型电热恒温培养箱(天津市泰斯特仪器有限公司); 96孔聚苯乙烯U型微孔板(浙江拱东医用塑料厂); 连

续微量加样器(美国Eppendorf公司)。

1.2 药材

河北安国药业集团有限公司产原蜂胶, 由笔者鉴定为真品。

1.3 试剂

95%乙醇、75%乙醇、微生物培养液(湖南长沙天地人生物科技有限公司); 水解酪蛋白(MH)培养基(北京三药科技开发公司); 水为纯化水。

1.4 菌株

金黄色葡萄球菌冻干菌株(ATCC25923, 河北医科大学第一医院检验科); 表皮葡萄球菌冻干菌株(ATCC12228, 山东省微生物研究所)。

2 方法

2.1 药液的制备

称取原蜂胶10g, 共3份, 冷冻24h后粉碎成颗粒, 放入无菌玻璃瓶中, 分别用95%乙醇、75%乙醇、纯化水各100ml浸泡, 放置阴凉避光处, 每天震荡3~4次, 2周后取滤纸滤过, 得各溶剂蜂胶提取液, 其质量浓度均为100mg/ml。再分别取不同溶剂蜂胶液1ml, 用连续微量加样器加入11.207ml灭菌生理盐水, 制备成最终质量浓度为8192 μg/ml的蜂胶物, 贮藏, 备用。

2.2 菌种的复苏

^Δ 基金项目: 河北省中医药管理局科研计划项目(No.2009034)

* 副主任药师。研究方向: 医院药学。电话: 0311-85917357。

E-mail: zhangfangying08@sina.com

通信作者: 主任药师, 教授, 硕士研究生导师。研究方向: 临床药学、药品不良反应。电话: 0311-85917352。E-mail: yjzh@jyy.com.cn

在无茵条件下从保存菌种斜面上蘸取一定量的金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌种接种于MH培养基上,于37℃需氧培养24h。

2.3 菌悬液制备

用无茵接种环挑取培养基上金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌,分别用微生物培养液、灭茵生理盐水校正至0.5 CFU浊标准,再用微生物培养液1:100(V/V)倍稀释,至菌悬液浓度为 1×10^6 CFU/ml。

2.4 微量板制备及点种

取一次性无茵96孔U型底培养板2个,标记为A板、B板,分别用来试验金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌。向A、B板每孔加入100 μl微生物培养液,在每排的第1孔分别加入质量浓度为8 192 μg/ml的95%乙醇、75%乙醇和水的蜂胶提取液100 μl,然后吸取100 μl至第2孔,混匀后再吸取100 μl至第3孔,如此连续倍比稀释至第11孔,并从第11孔中吸取100 μl弃去,第12孔为不含药物的阳性对照。再向A板第1至11孔每孔分别加入100 μl金黄色葡萄球菌悬液,B板第1至11孔每孔加入100 μl表皮葡萄球菌悬液,至此,药物最终质量浓度为2 048、1 024、512、256、128、64、32、16、8、4 μg/ml。全过程均为无茵操作。

2.5 菌株的培养

将A、B板放入电热恒温培养箱中,在37℃下培养24h。

2.6 判断标准

以小孔内完全抑制细菌生长的最低抑菌浓度(MIC)为标准。当阳性对照孔内细菌明显生长时试验才有意义。

3 结果

蜂胶95%乙醇提取液和蜂胶75%乙醇提取液对金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌均有抑菌作用,蜂胶水提取液对金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌无抑菌作用。其中蜂胶75%乙醇提取液的MIC值最小,抑菌效果最好。各蜂胶提取液对试验菌的MIC值见表1。

表1 各蜂胶提取液对试验菌的MIC值

Tab 1 The MIC of propolis extracted by different solvents against pathogenic bacteria

菌种	MIC, μg/ml		
	蜂胶95%乙醇提取液	蜂胶75%乙醇提取液	蜂胶水提取液
金黄色葡萄球菌	256	128	-
表皮葡萄球菌	256	128	-

注:“-”为无抑菌作用

note:“-”means no inhibitory effect

4 讨论

痤疮是发生于毛囊、皮脂腺的慢性炎症,好发于青春期男女,其发病与激素水平、毛囊皮脂腺导管角化异常、微生物感染等诸多因素有关^[1]。金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌是痤疮

的常见致病菌,很多文献报道了蜂胶对细菌有较好的抑制作用,但未见对痤疮常见致病菌抑菌活性的系统研究报道。蜂胶的抗菌谱及抗菌活性因其产地及提取方法的不同而各异,本课题组取河北产蜂胶的不同浓度乙醇提取液及水提取液,考察其对上述2种致病菌的抑制活性。结果显示,蜂胶95%乙醇提取液对2种致病菌的MIC均为256 μg/ml,蜂胶75%乙醇提取液对2种致病菌的MIC均为128 μg/ml,蜂胶水提取液对2种致病菌无抑菌作用,说明河北产蜂胶的乙醇提取液对痤疮常见致病菌有良好的抑菌作用。

目前,治疗痤疮的化学药物多为米诺环素、克林霉素、红霉素等,不规则的使用抗生素治疗痤疮增加了细菌的耐药性。Dreno B等^[5]通过试验对法国地区40名痤疮患者的脸部微生物的耐药性进行了分析,结果52%的痤疮丙酸杆菌和95%的葡萄球菌对琥乙红霉素产生了耐药性。而蜂胶提取液成分复杂,作用机制多样,抗菌作用为多种成分协同作用,毒副作用小,不宜使致病菌产生耐药性。临床用于治疗痤疮的中药主要成分多为黄连、黄芩和大黄,蒋献等^[6]研究了黄连、黄芩和大黄浸膏对表皮葡萄球菌的抑菌作用,其MIC均为1 000 μg/ml,与之比较蜂胶乙醇提取液明显优于黄连、黄芩和大黄浸膏对表皮葡萄球菌的抑菌作用。蜂胶能增强超氧化物歧化酶(SOD)的活性和降低血清脂质过氧化物(LPO)的含量,调节机体内氧化与抗氧化的平衡,降低皮肤色素沉着,抗衰老^[7]。利用蜂胶的上述优点,其可能在治疗痤疮的领域中取得一定成效。

参考文献

- [1] 李泽民,井玥,赵余庆.蜂胶国内外临床应用研究进展[J].中国药房,2007,18(2):146.
- [2] 张芳英,穆丽娟,杨继章.蜂胶提取物抗菌作用的研究进展[J].中国药房,2011,22(11):1 041.
- [3] 赵辩.临床皮肤病学[M].3版.南京:江苏科学技术出版社,2009:935.
- [4] 张立作,肖双娥,张士旭,等.蜂胶及其临床应用[J].养蜂科技,2003(3):38.
- [5] Dreno B, Reynaud A, Moysse D, et al. Erythromycin-resistance of cutaneous bacterial flora in acne [J]. *Eur J Dermatol*, 2001, 11(6):549.
- [6] 蒋献,何燕,李利.一清胶囊对痤疮丙酸杆菌及表皮葡萄球菌的体外抑菌作用研究[J].中国药房,2009,20(33):2 573.
- [7] 张瑞荔,文继红.蜂胶片治疗老年斑34例疗效观察[J].云南中医中药杂志,2003,24(6):12.

(收稿日期:2012-06-07 修回日期:2012-11-03)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊,欢迎投稿、订阅