

四种中药对感染牙本质小管粪肠球菌的抑制作用

于静 胡永权 王贵花 戴东晓 李君如 谢景朝 王荣霞 赵发银

【摘要】 目的 比较黄连等 4 种中药水煎剂对离体人牙根管内粪肠球菌的体外抑菌效果。**方法** 选取 84 颗新鲜拔除的人单根管牙,截取 6 mm 高的柱状牙根。随机分为 4 个实验组(黄连水煎剂组、五味子水煎剂组、大黄水煎剂组、连翘水煎剂组)和 3 个对照组[甲醛甲酚(FC)组、阴性对照组和阳性对照组],每组 12 颗牙。常规根管预备后灭菌制备感染粪肠球菌根管模型,阴性对照组不感染细菌,放置 0.9% 氯化钠注射液,余每组根管均感染细菌,分别放置上述不同药剂,3 天、7 天后分别培养并测量细菌的透光度。**结果** 黄连水煎剂组 3 天与甲醛甲酚组 3 天组间无差别($P>0.05$);连翘水煎剂组 3 天与阳性对照组 3 天组间无差别($P>0.05$);五味子水煎剂组 3 天与阴性对照组 7 天组间无差别($P>0.05$);大黄水煎剂组 3 天、黄连水煎剂组 7 天与甲醛甲酚组 7 天组间无差别($P>0.05$);连翘水煎剂组 7 天与阳性对照组 7 天组间无差别($P>0.05$);其余各组间差别均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 四种中药中,黄连、五味子、大黄均有不同程度抑制粪肠球菌的作用,黄连作用最强。黄连抑菌作用与 FC 相同。连翘无抑制粪肠球菌的作用。

【关键词】 根管消毒; 粪肠球菌; 中药; 水煎剂; 抑菌效果

【中图分类号】 R781.33 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2012.01.006

Inhibiting effects of four Chinese medicinal herb on enterococcus faecalis in the infected root canals

YU Jing, HU Yong-quan, WANG Gui-hua, et al. Department of Oral Medicine, the Second Hospital of Shijiazhuang City, Shijiazhuang 050051, China

Corresponding author: YU Jing, E-mail: zhangyifan991122@sina.com

【Abstract】 Objective The purpose of this study was to compare the inhibiting effects of four Chinese medicinal herb decoctions (such as Coptis chinensis Franch) on Enterococcus Faecals in the infected root canals. **Methods** A total of 84 single-rooted extracted human teeth were used in this study. The teeth were randomly divided into four groups (Coptis chinensis Franch decoction group, Schisandra Chinensis decoction group, Chinese rhubarb decoction group and Frucus forsythia decoction group) and three control groups (FC group, negative control group, and positive control group). Every group contained 12 teeth. The E. faecalis infected root canal models were manufactured after normal root canal preparation and sterilization. The teeth of negative control group was not infected by bacteria, and placed in 0.9% sodium chloride injection. The other teeth were infected by E. faecalis and treated with different Chinese medical herbs decoction separately. Transmittances of each group were measured after 3 days and 7 days. **Results** There was no difference in the following comparisons, Coptis chinensis Franch decoction group (3 d) and FC group (3 d) comparison, Frucus Forsythia decoction group (3 d) and positive control group (3 d) comparison, Frucus Forsythia decoction group (3 d) and negative control group (7d) comparison, Chinese rhubarb decoction group (3 d), Coptis chinensis Franch decoction group (7 d) and FC group (7 d) comparison, Frucus Forsythia (7 d) and positive control group (7 d) comparison, ($P>0.05$). There were statistical significance in the other groups. ($P<0.05$). **Conclusions** In the four

基金课题:河北省 2011 年医学科学研究重点课题计划(20110184)

作者单位:050051 石家庄市第二医院口腔科(于静、胡永权、戴东晓、李君如、谢景朝、赵发银),检验科(王贵花、王荣霞)

作者简介:于静(1974-),女,硕士,副主任医师。研究方向:口腔临床医学。E-mail:zhangyifan991122@sina.com

文献标引格式:

于静,胡永权,王贵花,等.四种中药对感染牙本质小管粪肠球菌的抑制作用[J].环球中医药,2012,5(1):23-25,28.

Chinese medical herbs mentioned above, *Coptis chinensis* Franch, *Schisandra Chinensis* and Chinese rhubarb had inhibition effects on *E. faecalis* at different levels. Among the four Chinese medical herbs, the most powerful one was *Coptis chinensis* Franch, that has the same inhibition effects as FC. *Frucrus Forsythia* has no inhibition effects on *E. faecalis*.

【Key words】 Root canal sterilizing; *Enterococcus faecalis*; Chinese Medical Herb; Decoction; Bacteriostatic effect

粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*, *E. faecalis*)常见于口腔内科根管治疗失败的再感染根管中。根管治疗后疾病(post-treatment endodontic disease, PED)患牙根管中粪肠球菌的感染率各学者的报道不一^[1-4],但均认为 PED 患牙根管中粪肠球菌为优势菌。目前,临床常用的根管消毒药物在使用中或多或少存有欠缺,因此,需要寻找一种安全有效的根管消毒药物来杀灭牙本质小管内粪肠球菌。中药具有独特的消炎、杀菌和解毒等功效,且毒副作用小。本实验选用黄连、五味子、大黄、连翘的水煎剂分别作为试验药物,以临床常用的根管消毒药甲醛甲酚(formocresol, FC)作对照,在新鲜的离体人牙上观察其对粪肠球菌的抑制作用,以期对四种中药的抗粪肠球菌性能作初步评价,为临床进一步研究提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

黄连、五味子、大黄、连翘水煎剂[四种中药饮片各 50 g 分别加 500 ml 水,浸泡并经两次熬制浓缩成 50 ml,高压灭菌得每毫升相当于原药材 1 g (1:1)的中药水煎剂,待冷却后置于 4℃ 冰箱备用]。甲醛甲酚(FC)(武汉大学口腔医学院口腔药物材料厂,批号 100525)。无菌生理盐水(石家庄四药有限公司,批号:101227407)。普通血琼脂培养基(90 mm,郑州安图绿科生物工程有限公司)。

1.2 实验设备

电子分析天平(MA240D 型,上海第二天平仪器厂);全自动立式蒸汽灭菌器(Model LS-B75L-II,江阴滨江医疗设备有限公司);电热恒温培养箱(山东省潍坊医疗器械厂);数字显示比浊仪(100% T,上海复星佰路生物技术有限公司);一次性使用细菌培养皿(直径为 90 mm,江苏康健医疗用品有限公司);生物显微镜(OLYMPUS-212,日本奥林巴斯仪器公司);15#-40# H 型根管锉(MANI. 日本)。

1.3 实验菌种

粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)临床菌株 1

株,石家庄市第二医院细菌室提供。

1.4 实验标本及分组

选择因正畸治疗拔除的新鲜单根管牙 84 颗,冷冻-20℃ 冰箱内保存备用。排除牙体龋坏及髓或牙根面龋者、牙根不完整或牙根未发育完全,根尖孔未完全形成或敞开及牙根表面存在细小裂纹者。84 颗离体牙分别编号,根据随机数字表依次将牙齿分入阴性对照组、甲醛甲酚组、黄连水煎剂组、五味子水煎剂组、大黄水煎剂组、连翘水煎剂组、阳性对照组,共为 7 组,每组 12 颗。见表 1。

表 1 7 组牙根根管的处理情况

组别	颗数	所作处理
阴性对照组	12	根管不感染粪肠球菌,放置生理盐水
甲醛甲酚组	12	根管感染粪肠球菌,放置甲醛甲酚消毒液
黄连水煎剂组	12	根管感染粪肠球菌,放置黄连水煎剂
五味子水煎剂组	12	根管感染粪肠球菌,放置五味子水煎剂
大黄水煎剂组	12	根管感染粪肠球菌,放置大黄水煎剂
连翘水煎剂组	12	根管感染粪肠球菌,放置连翘水煎剂
阳性对照组	12	根管感染粪肠球菌,放置生理盐水

1.5 实验方法

1.5.1 牙齿预备 将 84 颗离体牙浸泡于 5.25% NaCl 0 溶液,24 小时后常规开髓、揭顶、去冠髓、拔髓,采取逐步后退法预备根管致 40# 大小,配以 5.25% NaCl 0 溶液与 17% EDTA 溶液交替冲洗及超声荡洗。用高速金刚砂车针去除牙齿冠部及根尖部,留取 6 mm 高的柱状牙根。将制备好的牙根置于含有 25 ml 牛心脑浸液(BHI 肉汤)的试管中,121℃ 高温、高压下灭菌 15 分钟,置于 5% CO₂ 培养箱(37℃)内,24 小时后观察 BHI 肉汤无浑浊,以确定灭菌完全。

1.5.2 制备标准菌液 复苏并鉴定粪肠球菌,将其接种于 BHI 肉汤中,用比浊仪调整浊度为 0.5M (透光度为 80% T)的标准菌液备用。

1.5.3 建立根管感染模型 将 72 颗牙根置于已制备的含粪肠球菌的菌液中,置于 5% CO₂ 培养箱(37℃)内培养(以利于粪肠球菌感染根管)。24 小

时后取出各牙根,用无菌生理盐水荡洗根管,无菌吸潮纸尖干燥根管,用蜡将牙根固定于一次性细菌培养皿的底部(注意底部根管口封闭完全)。

1.5.4 放置根管消毒剂及检测消毒效果 用一次性无菌注射器将药剂按分组方法输送至每颗牙根的根管内(见表1)。将放置牙根的各组培养皿置于5% CO₂ 培养箱(37℃)内培养,至第3天时每组各取出6颗牙根,去除根管内试验药物,用无菌生理盐水冲洗、无菌吸潮纸尖干燥后用慢速G钻均匀磨取根管内层牙本质粉末,用电子天平称取4 mg,置于含有20 ml BHI肉汤的无菌试管内,5% CO₂ 培养箱(37℃)内培养72小时后取试管内上层液体,比浊仪测量上层液体的透光度,并记录数据。培养至第7天时取出每组剩余6颗牙根,作上述处理及检测。透光度数值接近阴性对照者,证明其抑菌效果好;反之接近阳性对照者,其抑菌效果较差。在测量透光度的同时,各组分别取少量上层液体接种于普通血琼脂培养基上,5% CO₂ 培养箱(37℃)内培养48小时。进行快速革兰染色,生物显微镜下鉴定BHI肉汤试管内细菌的种类。镜下观察为G⁺球菌,呈椭圆形,符合粪肠球菌镜下形态,无其他细菌生长。证明实验过程无污染。

1.6 数据分析

使用SPSS 18.0统计软件进行统计学分析。因各组数据方差不齐且非正态分布,选择秩和检验进行统计分析。 $P<0.05$ 为差别有统计学意义。

2 结果

2.1 细菌培养3天时透光度比较

7组培养物上层液体透光度比较,差别有统计学意义($P<0.05$)。黄连水煎剂组与甲醛甲酚组牙本质小管中残留细菌量较阳性对照组均明显减少,差别有统计学意义($P<0.05$);两者残留的细菌量最少,差别无统计学意义($P>0.05$);连翘水煎剂组与阳性对照组比较差别无统计学意义($P>0.05$);其余各组间差别均有统计学意义($P<0.05$)(见表2)。

2.2 细菌培养7天时透光度比较

7组培养物上层液体透光度比较,差别有统计学意义($P<0.05$)。黄连水煎剂组与甲醛甲酚组比较差别无统计学意义($P>0.05$),该两组与阴性对照组差别有统计学意义($P<0.05$),但数值很接近;与阳性对照组有差别且有统计学意义($P<0.05$);

连翘水煎剂组与阳性对照组比较差别无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

表2 各组根管不同处理方法抑菌效果比较($\bar{x}\pm s$, %)

分组	3 天	7 天
阴性对照组	81.42±1.30	69.63±2.75
甲醛甲酚组	78.50±0.92	66.92±3.23
黄连水煎剂组	77.08±1.46	66.67±1.37
五味子水煎剂组	70.58±0.51	61.67±1.07
大黄水煎剂组	65.00±2.53	57.60±2.75
连翘水煎剂组	51.02±1.28	37.57±2.24
阳性对照组	49.70±1.07	37.33±1.27

3 讨论

粪肠球菌多存在于根管充填完善但仍有持续根尖损害的根管中,是导致根管治疗失败的主要病原菌。本研究参考Haapasalo及Ørstavik的实验方法^[5]将粪肠球菌植入离体牙根管内,并模拟口腔温度及厌氧环境进行培养,制备感染根管内牙本质小管的体外模型,观察临床常用根管消毒药物及四种中药的抑菌效果。本实验能比较准确的模拟口腔内环境,比较直观的反映实际情况,所得结果可信且具有一定的临床指导意义。

根管治疗步骤包括根管预备、消毒和充填,有研究发现根管经过预备后,虽然根管内细菌的数量明显减少^[6],却不能完全被杀灭。由此可见应用有效的药物消毒是很有必要的。而药物消毒的效果则主要取决于根管消毒剂。因此,本实验选用临床常用并公认消毒效果较好的甲醛甲酚作为对照组,观察黄连、五味子、大黄、连翘水煎剂对离体人牙根管内粪肠球菌的抑菌效果,使实验结果更直观、更具说服力。

为了更精确地反映中药的抑菌作用,笔者还选择了对肠球菌的体外抗菌活性检测有较好的抑菌效果^[7-9]的六种中药(黄连、五味子、大黄、连翘、乌梅、黄芩),应用M-H琼脂进行了六种中药对粪肠球菌抑菌活性的检测,并选出其中抑菌效果较好的中药黄连、五味子、大黄、连翘进行了对感染牙本质小管粪肠球菌的抑菌实验。实验结果显示黄连水煎剂对粪肠球菌的抑菌作用优于其他参试中药,其抑菌效果与甲醛甲酚无差别,考虑与黄连的主要抑菌成分黄连素(小檗碱)有关。黄连素具有广谱抗菌作用,低浓度抑菌,高浓度杀菌。其作用机制可

(下转本期28页)

“形神合一”,《灵枢·口问》云:“悲哀忧愁则心动,心动则五脏六腑皆摇。”非常重视情志致病及情志疗法。现在一百多年来,西方心理学不断发展壮大,中医学中的心身医学体系仍未有较大发展,继承并发扬这些优秀传统,是中医学后辈们的责任。

中医学数千年来在意象等基础上不断发展,而心理动力学经短短一百多年在意象等的基础上,带动整个心理学的发展,很快就发展到现代心理学众多流派中最绚丽的一颗明珠,并仍有不断发展之势头。可从心理动力学借鉴许多先进之处,从意象等源头处找动力,继承发扬,不断创新,推动中医学心身医学体系的发展,为人类的卫生事业贡献力量。

参 考 文 献

- [1] 黄若华. 儿童多动症早期诊断与治疗[J]. 临床心身疾病杂志, 2008, 14(4): 387-389.
- [2] 苏林雁. 注意缺陷多动障碍诊断的临床思考[J]. 实用儿科临

床杂志, 2010, 25(12): 871-874.

- [3] 贾洁红. 综合治疗儿童多动症 30 例临床观察[J]. 吉林医学, 2011, 32(2): 308-309.
- [4] 朱建军, 苑媛. 来自东方的心理疗法——意象对话心理治疗[M]. 合肥: 安徽人民出版社, 2008: 31-67.
- [5] 魏源. 意象交流改变人的心理[J]. 台州学院学报, 2003, 25(2): 93-96.
- [6] 魏源. 绘画是人们最适宜的心灵表达方式——绘画在心理治疗中的应用及其作用机理[J]. 医学与哲学, 2005, 26(3): 59-60.
- [7] 施春华. 心灵本体的探索: 神秘的原型[M]. 哈尔滨: 黑龙江人民出版社, 2002: 51-53.
- [8] 吕爱平. 浅议意象思维在中医理论思维中的主导作用[J]. 辽宁中医杂志, 2008, 35(11): 1639-1640.
- [9] 王永炎, 郭蕾, 孙岸弢, 等. 中医意象诊疗模式诠释[J]. 北京中医药大学学报, 2010, 33(4): 221-224.

(收稿日期: 2011-10-08)

(本文编辑: 秦楠)

(上接本期 25 页)

能是: (1) 破坏细菌结构; (2) 抑制细菌糖代谢, 黄连能抑制酵母菌及细菌糖代谢的中间环节丙酮酸的氧化脱羧过程; (3) 抑制核酸、蛋白质合成。两种实验结果的一致性进一步证明了黄连有很好的抑制粪肠球菌作用, 具备成为新的根管消毒药物的潜能。且中药水煎剂制备相对简便, 毒副作用小, 不易产生耐药性, 因此进一步将其用于临床是十分经济和安全有效的。

参 考 文 献

- [1] Reynaud Af Geijersstam AH, Ellington MJ, Warner M, et al. Antimicrobial susceptibility and molecular analysis of *Enterococcus faecalis* originating from endodontic infections in Finland and Lithuania [J]. Oral Microbiol Immunol, 2006, 21(3): 164-168.
- [2] Rôças IN, Jung IY, Lee CY, et al. Polymerase chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in a South Korean population[J]. J Endod, 2004, 30(7): 504-508.
- [3] Peciulienė V, Balciuniene I, Eriksen HM, et al. Isolation of *En-*

terococcus faecalis in previously root-filled canals in a Lithuanian population[J]. J Endod, 2000, 26(10): 593-595.

- [4] Hancock HH 3rd, Sigurdsson A, Trope M, et al. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2001, 91(5): 579-586.
- [5] Haapasalo M, Ørstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules [J]. J Dent Res, 1987, 66(8): 1375-1379.
- [6] Pataky L, Iványi I, Grigárú, et al. Antimicrobial efficacy of various root canal preparation techniques: An in vitro comparative study[J]. J Endodon, 2002, 28(8): 603-605.
- [7] 苗明三, 方晓艳. 五味子多糖对正常小鼠免疫功能的影响[J]. 中国中医药科技, 2003, 10(2): 100.
- [8] 李仲兴, 王秀华, 张立志, 等. 应用 M-H 琼脂进行五倍子等 5 种中药对 28 株肠球菌的体外抗菌活性观察[J]. 中草药, 2001, 32(12): 1101-1103.
- [9] 岳云升, 李仲兴, 王秀华, 等. 用新方法进行大黄对 308 株临床菌株抗菌活性研究[J]. 航空航天医药, 2004, 15(1): 16-18.

(收稿日期: 2011-10-24)

(本文编辑: 秦楠)