

# 土槿皮等 5 种中药及其不同组合抗糠秕马拉色菌的体外药敏试验研究

付蓉 李元文 周志强 赵雅静 赵凤珠 宋利梅

**【摘要】 目的** 测定土槿皮、侧柏叶、苦参、丁香、肉桂及其不同组合对糠秕马拉色菌的最小抑菌浓度,观察其体外抑菌效果。**方法** 参照美国国家临床实验室标准化委员会制订的 M27-A 方案中酵母菌微量稀释法,在此基础上进行改良,采用含油的培养基作为药敏试验的液基,制备微量药敏板,对糠秕马拉色菌进行体外药敏试验。**结果** 最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)依次为:5 种中药混合液(槿柏洗剂):5.5 mg/mL,土槿皮+侧柏叶+苦参+丁香:16 mg/mL,土槿皮+侧柏叶+苦参:8.5 mg/mL,丁香+肉桂:9 mg/mL,土槿皮:10 mg/mL。**结论** 相比于各单味药及不同组合,槿柏洗剂全方 MIC 为最小,5 种中药及其不同组合混合液均有抑制糠秕马拉色菌生长的作用。

**【关键词】** 中药; 槿柏洗剂; 糠秕马拉色菌; 体外药敏试验; 头皮脂溢性皮炎  
**【中图分类号】** R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2015.10.002

**Inhibitive effect of five kinds of Chinese herbal and their different combination on Malassezia furfur in vitro** FU Rong, LI Yuan-wen, Zhou Zhi-qiang, et al. Department of Dermatology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China  
Corresponding author: LI Yuan-wen, E-mail: chmt1204@163.com

**【Abstract】 Objective** To observe the inhibitive effect of the *cortex pseudolaricis*, *oriental arborvitae*, *sophora flavescens ait*, *clove*, *cinnamon* and their different combination on *Malassezia furfur* in vitro. **Methods** Based on the M27-A scheme about yeast micro dilution method, which was developed by the national clinical laboratory standardization committee (NCCLS), we prepared drug sensitive plate and liquid medium with oil to test the sensitivity of Chinese herb to *Malassezia furfur*. **Results** Minimum inhibitory concentration(MIC): 5 kinds of Chinese herbal mixture (the *Jin Bai* lotion): 5.5mg/mL, *cortex pseudolaricis* + *oriental arborvitae* + *sophora flavescens ait* + *clove*: 16mg/mL, *cortex pseudolaricis* + *oriental arborvitae* + *sophora flavescens ait*: 8.5mg/mL, *clove* + *cinnamon*: 9mg/mL, *cortex pseudolaricis*: 10mg/mL. **Conclusions** Compared to the single herb and the different combinations, the MIC of *Jin Bai* lotion was the smallest. Five kinds of Chinese herbal and their different mixture can inhibit the *Malassezia furfur*.  
**【Key words】** Chinese Herbal; *Jin Bai* lotion; *Malassezia furfur*; Drug sensitivity test in vitro; Seborrheic dermatitis of scalp

马拉色菌属酵母样真菌,为条件致病菌,是温血动物及人类皮肤上的正常寄生菌,主要生长在人类皮肤角质层,具有嗜脂性<sup>[1]</sup>。临床上常见的花斑癣、马拉色菌毛囊炎、脂溢性皮炎等疾病均与此相

关,近年认为马拉色菌在头皮上的过度增生是导致头皮脂溢性皮炎的重要原因<sup>[2]</sup>。实验表明,头皮上存在的马拉色菌主要为糠秕马拉色菌、球形马拉色菌、合轴马拉色菌<sup>[3]</sup>。目前针对马拉色菌的西药主要为抗真菌制剂,但治疗不良反应大,易出现耐药性,故寻找作用安全、疗效满意且价格合理的抗菌药物的任务仍然艰巨<sup>[4]</sup>。抗真菌中药的筛选研究已开展多年,相比传统的西药抗真菌药物具有不良反应小、价格低廉、较少出现耐药等优点<sup>[2]</sup>。笔者

作者单位:100078 北京中医药大学东方医院皮肤科  
作者简介:付蓉(1979-),女,博士,主治医师。研究方向:皮肤真菌病学。E-mail: catibeauty@163.com  
通讯作者:李元文(1962-),本科,主任医师,博士生导师,教授。研究方向:中医皮肤病学。E-mail: chmt1204@163.com

团队根据多年应用中药治疗头皮脂溢性皮炎的经验,总结出了临床疗效较好的槿柏洗剂,采用目前成熟的液基微量稀释法,观察其组成成分及不同组合混合液对糠秕马拉色菌的抑菌效果,为临床治疗提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药物 槿柏洗剂全方:土槿皮、侧柏叶、苦参、丁香、肉桂(采用江阴天江药业有限公司生产的中药配方颗粒剂剂型)。土槿皮、苦参、丁香、肉桂,4 种中药颗粒剂各 1 g,加蒸馏水制成混悬液 10 mL,浓度为 0.1 g/mL(颗粒剂),因前期预试验结果表明侧柏叶最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)值可能偏大,故侧柏叶 2 g 加蒸馏水制成混悬液 10 mL,浓度为 0.2 g/mL(颗粒剂),4℃ 存放备用。

1.1.2 菌株 两株糠秕马拉色菌标准菌株(CBS1878)购于中国医学科学院皮肤病研究所真菌室。

1.1.3 主要仪器 比浊仪、高压灭菌锅(SANYO MLS-3020)、水浴箱(北京市医疗设备厂)、恒温培育箱(XMT-152C,重庆四达实验仪器厂)、超净台(造鑫企业有限公司)、显微镜(OLYMPUS-BX6 0F5)、8×12孔圆底酶标板(北京化工厂)。

1.1.4 培养基 橄榄油固体培养基:葡萄糖 20 g、琼脂 17 g、蛋白胨 10 g、酵母浸膏 10 g、橄榄油 20 g、氯霉素 0.1 g、蒸馏水 1000 mL,将上述原料溶于蒸馏水中,加热煮沸 3 次,使混合液充分溶化呈棕橙色均匀半透明状态,高温高压灭菌,冷却凝固后放入 4℃ 冰箱备用。液体培养基:麦芽糖 20 g、酵母浸膏 2 g、葡萄糖 20 g、橄榄油 20 g、蒸馏水 500 mL,制法同上。

1.2 方法

土槿皮、侧柏叶、苦参、丁香、肉桂 5 种中药及其

不同组合情况:单味药 5 种、二药组合 10 组,三药组合 10 组,四药组合 5 组,五药组合 1 组。

1.2.1 药液加样 将 5 种中药及其不同组合中药贮备液分别用液体培养基稀释成试验浓度,从含药液 100%、90%、80%,最终降为 10%(共 10 个浓度梯度);将稀释后的药液加入微量稀释板(96 孔圆底酶标板),每孔 100 μL;每种药同时做 2 组。

1.2.2 菌悬液制备 将标准糠秕孢子菌菌株接种于橄榄油固体培养基上,37℃ 恒温温箱培养 4 天后,生理盐水洗脱菌落,制成菌悬液,比浊仪调至麦氏 4 号比浊管浓度,用血细胞计数板计数,调其浓度为(1.0 ~ 2.0)×10<sup>7</sup> CFU/mL。用液体培养基稀释上一步所得的菌液 10 倍,使其菌含量为(1.0 ~ 2.0)×10<sup>6</sup> CFU/mL。取制备好的含药 96 孔板,每孔加入上一步之菌液 100 μL,使其最终菌浓度为(0.5 ~ 1.0)×10<sup>6</sup> CFU/mL,各中药药液的终浓度分别为 50、45、40、35、30、25、20、15、10、5 mg/mL。同时设一组阴性对照:每孔加入液体培养基 200 μL;一组阳性对照:每孔加入制备好的菌液 100 μL及液体培养基 100 μL。在摇床上将菌液及药液混匀 5 分钟。

1.2.3 结果判读及统计 将接种好的微孔培养板置 32℃ 温箱孵育,48 小时后观察结果。肉眼观察马拉色菌菌落非常清晰,采用直接法读取数据。结果判断的前提是阳性对照孔菌落生长良好,阴性对照孔无菌生长,其他孔无菌落生长为抑制,有菌落生长为无抑制。当存在拖尾现象时,则需与阳性对照孔做比较,以生长被抑制 80% 判定为最低抑菌浓度。

2 结果

各单味药及不同组合混合液的药敏试验均在相同条件下重复 10 次,分别测得 MIC 值(已换算成生药浓度),取均值后统计如下,详见表 1 ~ 表 3。

表 1 单味药及两药组合混合液的 MIC 均值(mg/mL)

单味药物	MIC 均值	两药组合	MIC 均值	两药组合	MIC 均值
土槿皮	10	土槿皮+侧柏叶	17	侧柏叶+丁香	31
侧柏叶	45	土槿皮+苦参	17.5	侧柏叶+肉桂	26
苦参	15	土槿皮+丁香	16.5	苦参+丁香	10.5
丁香	12.5	土槿皮+肉桂	11.5	苦参+肉桂	12.5
肉桂	15	侧柏叶+苦参	25.5	丁香+肉桂	9

表 2 三药组合混合液的 MIC 均值 (mg/mL)

三药组合	MIC 均值
土槿皮+侧柏叶+苦参	8.5
苦参+丁香+肉桂	14
土槿皮+侧柏叶+丁香	12
土槿皮+丁香+肉桂	14.5
土槿皮+侧柏叶+肉桂	24.5
侧柏叶+丁香+肉桂	28
侧柏叶+苦参+丁香	25.5
土槿皮+苦参+丁香	20
侧柏叶+苦参+肉桂	26
土槿皮+苦参+肉桂	15.5

表 3 四药及五药组合混合液的 MIC 均值 (mg/mL)

四药组合	MIC 均值
土槿皮+侧柏叶+苦参+丁香	16
侧柏叶+苦参+丁香+肉桂	20.5
土槿皮+苦参+丁香+肉桂	17.5
土槿皮+侧柏叶+苦参+肉桂	19
土槿皮+侧柏叶+丁香+肉桂	21
五药组合	MIC 均值
土槿皮+侧柏叶+苦参+丁香+肉桂 (槿柏洗剂全方)	5.5

各单味药及混合液均表现出一定的抑菌作用。单味药中,土槿皮的抑菌作用最强 (MIC 值为 10 mg/mL),侧柏叶的抑菌作用最弱 (MIC 值为 45 mg/mL);各混合液中,槿柏洗剂全方的抑菌作用最强 (MIC 值为 5.5 mg/mL),其余混合液的 MIC 值在 8.5 mg/mL 到 31 mg/mL 之间,均具有抑制马拉色菌生长的作用。与各单味药及其他混合液相比槿柏洗剂全方的抑菌作用比较明显。

3 讨论

本研究采用的是液基微量稀释法,在美国国家临床实验室标准化委员会制订的 M27-A 方案基础上进行了改良,加入了糠秕马拉色菌生长所必须的油脂,该法具有可重复性、检测精确、误差小、观察时间短、试验方法简便等优点<sup>[5]</sup>。在试验中阳性对照孔菌落生长良好,中药处理孔随药物浓度梯度升高而菌的生长受到抑制。

对于中草药抑菌作用的研究,近年来可见到许多报道。王佳等<sup>[6]</sup>测定了 13 种中草药对限制性马拉色菌的体外最低抑菌浓度,证明黄连、乌梅、鱼腥草、大黄、姜半夏、蒲公英有相当强的抑菌能力。严

洲平等<sup>[7]</sup>研究了中药谷精草对合轴、糠秕马拉色菌的体外敏感性,结果表明谷精草具有良好的抗真菌效果。郭惠仪等<sup>[8]</sup>观察了二仙丸各单味药及其不同组合对马拉色菌的体外抑菌效果,结果显示其对合轴、糠秕、球形、钝形马拉色菌均有抑菌作用。

中医学认为脂溢性皮炎发病主要因素为湿热内蕴,感受风邪所致<sup>[9]</sup>。过食肥甘厚味,湿热内蕴可致皮脂异常溢出,使条件致病菌马拉色菌过度增殖,破坏头皮微环境,从而出现丘疹、脱屑等炎症表现<sup>[8]</sup>。槿柏洗剂是笔者团队在临床上治疗头皮脂溢性皮炎的常用方,具有非常好的疗效。方中苦参清热燥湿、祛风杀虫;土槿皮祛风除湿,以皮达皮、直达病所<sup>[10]</sup>;侧柏叶祛风湿、散肿毒;丁香、肉桂可杀虫疗癣。诸药合用共奏祛湿止痒、解毒杀虫去癣之功效。

本次研究旨在通过体外药敏试验,观察槿柏洗剂成分及全方的抑菌效果,为临床验方奠定试验基础和疗效依据。试验所使用的药物均为颗粒剂型,有很好的临床效果,在生产工艺上,质量和纯度控制较好,尽可能减少了因药物提取问题而影响试验结果的可能性。药敏试验结果表明各单味药及混合液均具有抑菌作用,与各单味药及其他混合液相比,槿柏洗剂全方的 MIC 值最小,说明其抑菌作用最强。一方面佐证了其临床组方的有效性;另一方面也表明:组成合理中药复方的单味药之间可能存在协同作用,使得复方的抑菌效果得到扩大,抑菌能力强于每一味单味药。目前中药单体研究是一个热点,如黄欣等<sup>[11]</sup>报道了氧化苦参碱、苦参碱、麝香草酚、丁香酚在体外药敏实验中对马拉色菌具有较好的抑菌效果。但中药是复杂的,一种药物中往往含有多种单体成分,中药复方就更为复杂,单体成分之间是否存在协同的抑菌作用,尚处于进一步研究中。

参 考 文 献

[1] 任志欣,李东霞. 马拉色菌的研究进展[J]. 医学综述,2008, 14(3):441-442.

[2] 王佳,王艳萍,史健波,等. 13 种中草药对从头皮屑中分离纯化的限制性马拉色菌体外抑菌作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2010,27(11):915-918.

[3] 路永红,冉玉平,熊琳. 从夫妻双方的头皮屑中分离和鉴定马拉色菌[J]. 中华皮肤科杂志,2010,35(5):369-370.

[4] 刘科峰. 微生物和中药对马拉色菌的抑菌性研究、临床效果分析及流行病学调查[D]. 开封:河南大学,2012.

[5] 郑晓辉,许爱娥,魏晓冬,等. 39 种中草药对马拉色菌抑菌实

- 验研究[J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2005, 4(3): 178-179.
- [6] 王佳, 王艳萍, 史健波, 等. 13 种中草药对从头皮屑中分离纯化的限制性马拉色菌体外抑菌作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(11): 915-918.
- [7] 严洲平, 王清玲, 颜晓波, 等. 中药谷精草对合轴马拉色菌和糠秕马拉色菌的敏感性检测研究[J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2011, 10(1): 28-29.
- [8] 郭惠仪, 周欣欣, 江丹. 4 种中草药及其复方抗马拉色菌体的外药敏实验[J]. 中国真菌病学杂志, 2013, 8(4): 210-213.
- [9] 李曰庆. 中医外科学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2002: 209-210.
- [10] 刘涛峰, 刘小平, 张虹亚, 等. 中药水煎剂对马拉色菌分离株的体外抑菌实验[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2011, 25(1): 62-63.
- [11] 黄欣, 沈亮亮, 徐红, 等. 8 种中药单体抗球形马拉色菌的体外药敏实验[J]. 中国真菌病学杂志, 2011, 6(2): 98-100.

(收稿日期: 2015-05-30)

(本文编辑: 董历华)