

# 几种植物精油对临床常见病原菌的抑制作用

汤奕越<sup>1</sup>, 鄢国军<sup>2</sup>, 胡云<sup>1</sup>

1. 长沙市麓山国际实验学校, 湖南 长沙 410006; 2. 中南大学基础医学院微生物学系

**摘要:** **目的** 通过对肉桂精油、月桂精油及茶树精油的抑菌活性进行研究, 为植物源抗菌物质开发提供实验依据。 **方法** 利用纸片扩散法检测肉桂精油、月桂精油及茶树精油对临床常见病原菌的抑菌活性, 试管系列稀释法检测肉桂精油及月桂精油对这些细菌的最低抑菌浓度 (MIC) 及最低杀菌浓度 (MBC), 同时对肉桂精油及月桂精油抑菌活性的热稳定性进行研究。 **结果** 茶树精油对所试菌株抑菌作用较弱, 月桂精油及肉桂精油对这些细菌具有明显的抑菌活性, 且其抑菌活性具有较好的热稳定性。MIC 及 MBC 检测表明, 月桂精油对本次研究所检测菌株的 MIC 为 1.56~25.00  $\mu\text{g/ml}$ , MBC 为 3.12~50.00  $\mu\text{g/ml}$ , 而肉桂精油对本次实验所研究菌株的 MIC 为 1.56~12.50  $\mu\text{g/ml}$ , MBC 为 6.25~50.00  $\mu\text{g/ml}$ 。 **结论** 肉桂精油及月桂精油对临床常见病原菌具有明显抑菌活性, 且热稳定性良好。

**关键词:** 细菌感染; 药物敏感性; 植物源抗菌药物; 植物精油

中图分类号: R-33 文献标识码: B 文章编号: 1006-3110(2017)10-1258-04 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2017.10.032

## Inhibitory effects of several plant essential oils on common clinical pathogens

TANG Yi-yue\*, WU Guo-jun, HU Yun

\* Lushan International Experimental School, Changsha, Hunan 410006, China

Corresponding author: WU Guo-jun, E-mail: wuguojun@csu.edu.cn; HU Yun, E-mail: huyun0613@126.com

**Abstract:** **Objective** To study the antimicrobial activities of cinnamon essential oil, laurel essential oil and tea tree essential oil so as to provide experimental evidence for the development of plant-derived antimicrobial substances. **Methods** The antimicrobial activities of cinnamon essential oil, laurel essential oil and tea tree essential oil on common pathogenic bacteria were tested by disk diffusion method. The minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) of cinnamon essential oil and laurel essential oil were detected by tube serial dilution method, and the thermal stability of antibacterial activities of cinnamon essential oil and laurel essential oil was also studied. **Results** Tea tree essential oil had weak inhibitory effect on the tested strains, while the essential oils of cinnamon and laurel had obvious antibacterial activities against these bacteria, and the antibacterial activities of these two essential oils also had good thermal stability. MIC and MBC tests showed that the MIC and MBC of laurel essential oil were 1.56-25.00  $\mu\text{g/ml}$  and 3.12-50.00  $\mu\text{g/ml}$  respectively for this research, while the

**作者简介:** 汤奕越 (2000-), 男, 湖南长沙人, 长沙麓山国际实验学校在读学生。

**通信作者:** 鄢国军, E-mail: wuguojun@csu.edu.cn. 胡云, E-mail: huyun0613@126.com。

- [1] Sharif-Kashani B, Bikelid B, Moradi A, et al. Coexisting venous thromboembolism in patients with tuberculosis [J]. Thromb Res, 2010, 125 (5): 478-480.
- [2] 黄彩芝, 莫丽亚, 张新萍, 等. 重症肺炎患儿血浆纤维蛋白单体与 D-二聚体水平分析 [J]. 实用预防医学, 2016, 23 (9): 1065-1068.
- [3] Elsalam HMA, Mohamed MA, Gammal MSE, et al. Hypercoagulability in different respiratory diseases [J]. Egypt J Chest Dis Tuberc, 2013, 62 (2): 331-341.
- [4] 汤春梅, 张言斌, 吴桂峰, 等. 几种肺部疾病患者血浆 D-二聚体测定及其意义 [J]. 广东医学, 2007, 28 (7): 1067-1068.
- [5] 卫生部政策法规司. 中华人民共和国卫生标准汇编 (2008 年度, 中) [M]. 北京: 中国标准出版社, 2010: 237-248.
- [6] 中华医学会. 临床诊疗指南/呼吸病学分册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 11-146.
- [7] Riley RS, Gilbert AR, Dalton JB, et al. Widely used types and clinical applications of D-Dimer assay [J]. Lab Med 2016, 47 (2): 90-102.
- [8] Komazaki Y, Sakakibara Y, Sakashita H, et al. Pulmonary thromboembolism with pulmonary tuberculosis [J]. Kekkaku, 2011, 86 (7): 717-722.
- [9] Dentan C, Epaulard O, Seynaeve D, et al. Active tuberculosis and venous thromboembolism [J]. Clin Infect Dis, 2014, 58 (4): 495-501.
- [10] Smeeth L, Cook C, Thomas S, et al. Risk of deep vein thrombosis and pulmonary embolism after acute infection in a community setting [J]. Lancet, 2006, 367 (9516): 1075-1079.
- [11] Goncalves IM, Alves DC, Carvalho A, et al. Tuberculosis and venous thromboembolism: a case series [J]. Cases J, 2009, 2: 9333.
- [12] Samama MM, Combe S, Conard J, et al. Risk assessment models for thromboprophylaxis of medical patients [J]. Thromb Res, 2012, 129 (2): 127-132.
- [13] Kahn SR, Lim W, Dunn AS, et al. Prevention of VTE in nonsurgical patients: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-based Clinical Practice Guidelines [M]. Chest, 2012, 141: e195S-226S.
- [14] Kerr R, Stirling D, Ludlam CA. Interleukin 6 and haemostasis [J]. Br J Haematol, 2001, 115 (1): 3-12.
- [15] Song YJ, Zhou ZH, Liu YK, et al. Prothrombotic state in senile patients with acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease combined with respiratory failure [J]. Exp Ther Med, 2013, 5 (4): 1184-1188.
- [16] 王冰冰, 张立, 郭明日, 等. 肺结核患者 D-二聚体及纤维蛋白原检测的临床意义 [J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35 (14): 1942-1943.

收稿日期: 2017-03-08

MIC and MBC of cinnamon essential oil were 1.56–12.50  $\mu\text{g/ml}$  and 6.25–50.00  $\mu\text{g/ml}$  respectively. **Conclusions** Cinnamon essential oil and laurel essential oil have obvious antibacterial activities against the common clinical pathogenic bacteria, and their thermal stability is very good.

**Key words:** bacterial infection; drug sensitivity; plant-derived antimicrobial agent; plant essence oil

随着抗菌药物特别是广谱抗菌药物在临床治疗中使用的不断增加,特别是抗菌药物的滥用,导致临床耐药菌株及由这些耐药菌株所致的难治性感染的不断出现,造成抗菌药物临床治疗效果不断下降,严重影响人们的健康水平和生活质量,因此寻找新的抗菌药物一直是广大科技工作者的研究热点。中草药在我国是具有垄断地位的原材料,从传统中草药中发现并纯化抗菌药物具有广阔的应用前景。本文拟对月桂精油、肉桂精油及茶树精油对临床常见病原菌的抑制作用进行研究,以期对植物源抗菌药物的筛选和开发提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 月桂精油、肉桂精油、茶树油均购自广州汉佰斯日化科技发展有限公司,空白药物敏感纸片购自杭州微生物试剂有限公司。

1.1.2 菌株 鲍曼不动杆菌(4株)、大肠埃希菌(6株)、铜绿假单胞菌(8株)、金黄色葡萄球菌(5株)、产气肠杆菌(4株)、肺炎克雷伯菌(7株)、屎肠球菌(4株)及粪肠球菌(5株)均为中南大学基础医学院微生物学系保存。

1.1.3 培养基 营养琼脂培养基(20160421-02)、营养肉汤培养基(批号:20140418-00)、MRS 琼脂培养基(批号:20141125001)、MRS 肉汤培养基(批号:20141128001)均购至杭州微生物试剂有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 菌株活化 将 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存的菌种划线接种于固体培养基,其中鲍曼不动杆菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、产气肠杆菌和肺炎克雷伯菌接种营养琼脂平板,屎肠球菌和粪肠球菌则接种至含30% MRS 琼脂及70%营养琼脂的混合平板, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养24 h,第2 d再转种至相应培养基,活化三代后的细菌用于下述实验。

1.2.2 月桂精油、肉桂精油、茶树油抑制活性的测定 取对数生长期测试菌,配成 $1.5\times 10^8\text{ cfu/ml}$ 菌液,取100  $\mu\text{l}$ 涂布平板。待平板表面稍干燥后,贴上含三种植物精油的药敏纸片(每片分别含20  $\mu\text{l}$ 精油), $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养24 h后观察结果。

1.2.3 植物精油对临床常见病原菌最低抑菌浓度

(MIC)及最低杀菌浓度(MBC)的测定

1.2.3.1 丙酮对待试菌生长的影响 配制含20.0%、10.0%、5.0%、2.5%、1.25%、0.625%、0.0%丙酮的营养肉汤培养基或含30% MRS 肉汤及70%营养肉汤的混合培养基,向上述含不同浓度丙酮的营养肉汤培养基中(1 ml)分别接种 $1.5\times 10^8\text{ cfu/ml}$ 的大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌50  $\mu\text{l}$ ,向含不同浓度丙酮的30% MRS 肉汤及70%营养肉汤的混合培养基中接种50  $\mu\text{l}$ 屎肠球菌菌液,然后置 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养18~24 h,观察不同浓度丙酮对这些细菌生长的影响。

1.2.3.2 植物精油对临床常见病原菌 MIC 及 MBC 的测定 经1.2.3.1步骤确定基本不影响待试菌生长的丙酮浓度,将待试植物精油用含该浓度丙酮的营养肉汤培养基(待试菌分别为大肠埃希菌、鲍曼不动杆菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌及产气肠杆菌)或含30% MRS 肉汤及70%营养肉汤组成的混合培养液(待试菌为屎肠球菌及粪肠球菌)配成含100.00、50.00、25.00、12.50、6.25、3.12、1.56、0.78  $\mu\text{g/ml}$ 植物精油的应用液。然后向上述1 ml培养基中加入 $1.5\times 10^8\text{ cfu/ml}$ 各待试菌50  $\mu\text{l}$ , $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养24 h后,观察细菌生长情况。然后从无菌生长的试管摇匀,取出100  $\mu\text{l}$ 溶液,铺平板后 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养24 h,次日观察结果,测定各植物精油对临床常见病原菌的MIC及MBC。

1.2.4 温度对植物精油抑菌活性的影响 将所试植物精油分成5份,一份(No.1)不经高温处理,另4份分别经 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ (No.2)、 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (No.3)、 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ (No.4)及 $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ (No.5)处理,其中 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 样品分别处理2 h, $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 样品和 $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ 样品则分别处理30 min,然后按1.2.2方法检测经热处理后的植物精油对临床常见病原菌的抑制作用,研究植物精油抗菌活性的热稳定性。

1.2.5 统计学处理 抑菌环直径以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,单因素多个样本均数比较用方差分析,组间比较用 $q$ 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 三种植物精油对临床常见病原菌的抑菌活性 利用纸片扩散法研究月桂精油、肉桂精油及茶树精油对鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、产

气肠杆菌、肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、屎肠球菌及粪肠球菌的抑菌活性,结果表明月桂精油除对铜绿假单胞菌的抑菌活性稍低外,对所检测的另外 7 种临床常见病原菌均具有良好的抑菌活性。而肉桂精油对本实验所检测的 8 种临床常见菌株均具有良好的抑菌活性,茶树精油的抑菌活性较差,除对产气肠杆菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌及屎肠球菌有微弱抑菌活性外,对另外四种细菌几乎没有抑菌活性,见表 1。由于茶树精油对本实验所试菌株的抑菌作用较弱,故后续实验对茶树精油不再进行研究。

表 1 月桂精油、肉桂精油及茶树精油对临床常见病原菌的抑菌圈直径(mm, $\bar{x}\pm s$ )

菌种	菌株数	月桂精油	肉桂精油	茶树精油
肺炎克雷伯菌	7	15.3±2.1	30.7±3.2	10.8±1.6
鲍曼不动杆菌	4	21.7±3.2	29.3±2.7	9.7±1.3
金黄色葡萄球菌	5	16.4±2.7	32.7±4.3	10.1±1.5
大肠埃希菌	6	16.5±2.4	36.2±4.1	11.8±1.8
产气肠杆菌	4	17.1±2.1	26.6±3.3	13.2±1.9
铜绿假单胞菌	8	8.6±1.2	21.3±2.5	13.1±2.2
屎肠球菌	4	21.7±3.6	22.6±4.0	12.6±2.0
粪肠球菌	5	15.2±1.9	25.8±3.4	10.8±2.1

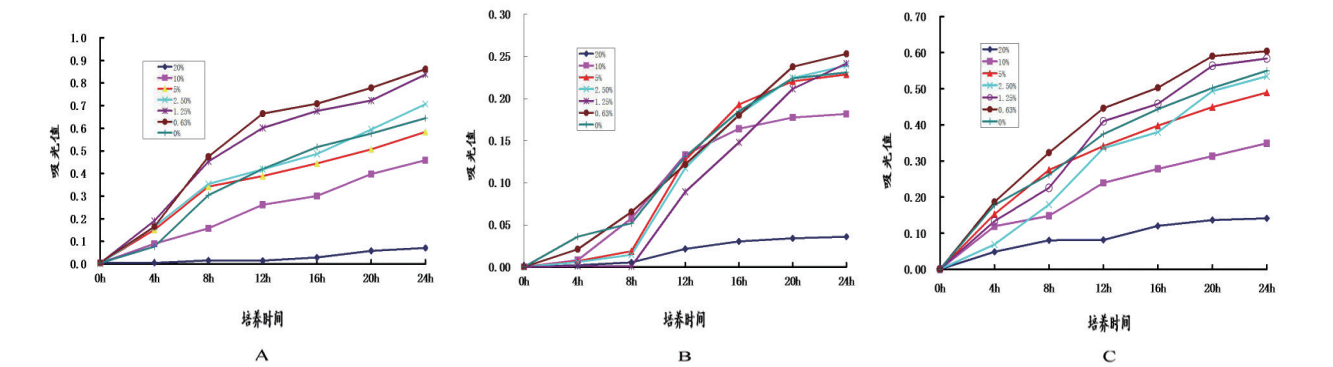
2.2 月桂精油、肉桂精油对临床常见病原菌的 MIC 及 MBC 测定 实验表明高浓度丙酮对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌及屎肠球菌的生长具有抑制作用,但培养基中含 5.0% 丙酮对待试菌的生长基本无影响,

见图 1,故用含 5.0% 丙酮的培养基配制不同浓度的精油溶液(其中丙酮作为精油的溶剂,可使精油中的抗菌活性物质更好的溶解)进行 MIC 及 MBC 的测定,结果见表 2。

表 2 月桂精油、肉桂精油对临床常见病原菌的 MIC 及 MBC(μg/ml)

菌种	肉桂精油		月桂精油	
	MIC	MBC	MIC	MBC
肺炎克雷伯菌	12.5	50.00	6.25	25.00
鲍曼不动杆菌	6.25	25.00	1.56	3.12
金黄色葡萄球菌	6.25	25.00	25.00	50.00
大肠埃希菌	12.5	50.00	12.50	25.00
产气肠杆菌	12.5	50.00	6.25	25.00
铜绿假单胞菌	6.25	25.00	25.00	50.00
屎肠球菌	1.56	6.25	6.25	25.00
粪肠球菌	3.12	12.5	6.25	25.00

2.3 温度对月桂精油、肉桂精油抑菌活性的影响 将月桂精油及肉桂精油经 60℃、80℃、100℃ 及 120℃ 处理不同时间,然后与未经热处理的月桂精油及肉桂精油同时利用纸片扩散法对处理后的月桂精油及肉桂精油的抑菌活性进行测定。结果表明,即便经过 120℃ 处理 30 min,对月桂精油和肉桂精油的抑菌活性均无明显影响,显示出这两种植物源抗菌物质良好的热稳定性,见表 3。



A: 金黄色葡萄球菌; B: 屎肠球菌; C: 大肠埃希菌

图 1 不同浓度丙酮对金黄色葡萄球菌及屎肠球菌生长的影响

表 3 不同温度处理的月桂精油、肉桂精油对临床常见病原菌的抑菌活性( $\bar{x}\pm s$ )

菌种	菌株数		未经热处理	60℃	80℃	100℃	120℃	F 值	P 值
肺炎克雷伯菌	7	月桂精油	15.8±2.9	16.2±3.1	17.5±2.1	17.2±2.9	18.0±3.5	0.39	0.8133
		肉桂精油	31.2±3.9	31.2±2.8	30.5±3.4	32.6±4.1	31.8±4.0	0.18	0.9435
铜绿假单胞菌	8	月桂精油	8.8±1.4	9.7±2.3	8.1±2.6	9.2±2.1	8.0±1.9	0.47	0.7537
		肉桂精油	23.5±3.7	22.0±3.4	22.9±3.1	22.4±3.8	24.5±4.0	0.30	0.8729
鲍曼不动杆菌	4	月桂精油	22.6±2.1	23.8±3.4	22.3±3.1	23.5±3.8	22.4±2.9	0.19	0.9384
		肉桂精油	31.8±3.8	31.2±3.0	30.5±3.4	32.7±3.6	32.0±3.1	0.24	0.9108
金黄色葡萄球菌	5	月桂精油	15.1±2.0	13.4±2.5	14.5±3.0	13.8±2.4	17.2±3.0	1.31	0.3115
		肉桂精油	36.1±3.4	34.2±4.2	35.4±3.8	33.4±3.7	34.6±3.9	0.30	0.8716
屎肠球菌	4	月桂精油	20.1±2.5	19.8±2.1	18.4±3.4	17.3±2.9	18.7±3.2	0.62	0.6532
		肉桂精油	21.2±3.0	20.5±2.8	21.9±2.5	22.0±3.1	22.9±3.0	0.39	0.8119
粪肠球菌	5	月桂精油	13.8±2.1	14.0±2.5	15.1±2.4	15.0±3.1	16.8±2.8	0.84	0.5225
		肉桂精油	24.8±3.7	23.8±3.4	26.1±3.8	25.2±4.1	22.7±3.7	0.49	0.7437



### 3 讨 论

自 20 世纪 40 年代青霉素应用于临床以来,各种新型抗菌药物不断涌现,感染性疾病的病死率大大降低。然而越来越多的耐药菌株种类和越来越高的耐药比例已成为细菌感染治疗的重要障碍<sup>[1]</sup>。当前,各种多重耐药、广泛耐药甚至泛耐药菌株的世界性流行成为全球抗感染领域的重大挑战,如耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌、泛耐药非发酵菌、耐万古霉素金黄色葡萄球菌和肠球菌都是临床治疗的难点问题。特别是一些特殊的患者如烧伤患者,由于其皮肤破损、免疫系统紊乱、营养不良等,极易发生细菌感染,而且通过对导致烧伤患者感染的病原学研究表明,耐药菌特别是泛耐药菌的感染十分常见,严重感染可危及患者的生命<sup>[2-3]</sup>。随着广谱抗生素的发展,各种耐药菌趋于增多和复杂化,泛耐药菌的感染发生率也呈上升趋势,传统的抗菌药物的治疗面临越来越大的压力,因此寻找新的抗菌药物成为相关领域科学工作者的重要工作。植物源抗菌药物由于具有来源广泛、较难产生耐药性等特点进入了研究者的视野。

植物源抗菌药物是指存在于植物不同部位具有抗菌活性的化合物总称,通过不同的提取方法制备的植物源抗菌剂在食物保鲜中已经取得了广泛的应用<sup>[4]</sup>。相关研究表明,多种植物源物质具有明显的抑菌活性,如槲皮素<sup>[5]</sup>、肉桂精油<sup>[6]</sup>、大蒜提取物<sup>[7]</sup>等。这些植物源物质抑菌活性研究表明这些物质除了在食品保鲜领域具有广泛的应用前景外,在临床治疗方面可能有较好的应用前景。

肉桂精油、月桂精油、茶树精油是分别从肉桂、月桂及茶树树皮或树叶中提取的挥发性油类,对植物病原菌具有良好的抑菌活性<sup>[8-9]</sup>。对这些挥发性油类中抗菌活性物质的分离、纯化和鉴定是近年食品天然保鲜剂研究中的热点问题,研究表明肉桂精油中的肉桂醇、肉桂醛<sup>[10]</sup>等可能是其主要的抑菌活性物质。目前对月桂精油及茶树精油抗菌活性测定虽有报道,但其抗菌成份目前并不十分明确,有研究表明月桂精油中可能亦含有肉桂醛成分参与其抗菌活性的产生<sup>[11]</sup>。

本文利用纸片扩散法研究了肉桂精油、月桂精油及茶树精油对 8 种临床常见病原菌的抑菌活性,结果表明茶树精油对这些细菌的抑菌活性较低,抑菌圈直径均在 15.0 mm 以下,月桂精油除对铜绿假单胞菌的抑菌活性稍低外,对所试其它病原菌均具有较强的抑

菌活性;肉桂精油对所试细菌均具有较好的抑菌活性,其抑菌圈直径均在 18 mm 以上。此结果说明月桂精油和肉桂精油具有较好的抑菌活性。随后对月桂精油和肉桂精油对本实验所试病原菌的 MIC 及 MBC 进行了测定,结果表明月桂精油对本次研究所检测菌株的 MIC 为 1.56~25.00  $\mu\text{g/ml}$ ,MBC 为 3.12~50.00  $\mu\text{g/ml}$ ,而肉桂精油对本次实验所研究菌株的 MIC 为 1.56~12.50  $\mu\text{g/ml}$ ,MBC 为 6.25~50.00  $\mu\text{g/ml}$ 。将月桂精油及肉桂精油经不同温度热处理后再利用纸片扩散法研究处理物对临床常见病原菌的抑菌活性,表明热处理并不能改变两种植物精油的抑菌活性,即该两种植物精油中所含抑菌物质具有良好的热稳定性。

综上所述,茶树精油对本次研究所用临床菌株的抑制作用较差,但月桂精油和肉桂精油对这些细菌均具有良好的抑制作用,且月桂精油和肉桂精油中的抑菌物质对热不敏感,具有良好的稳定性,可能是治疗临床细菌感染特别是体表细菌感染的候选植物源抑菌剂。

### 参考文献

- [1] 林云万,梁颖茹,贺征,等. 某院 ICU 多重耐药鲍曼不动杆菌耐药性和碳青霉烯酶耐药基因分析[J]. 实用预防医学,2015,22(11):1313-1315.
- [2] 姚新宝,李娟,刘利华,等. 烧伤患者创面感染病原菌分布及耐药性监测[J]. 新疆医科大学学报,2016,39(12):1538-1540,1558.
- [3] 徐风瑞,乔亮,何明武,等. 烧伤患者感染耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药趋势与抗菌药物使用分析[J]. 中华医院感染学杂志,2016,26(7):1474-1476,1488.
- [4] 潘旭迟,傅昱晟,许剑峰,等. 17 种植物挥发油对食源微生物抑菌活性研究[J]. 食品工业科技,2016,37(16):107-112.
- [5] 房伟,李永年,察雪湘,等. 槲皮素和黄芪甲苷对多药耐药铜绿假单胞菌抗菌活性的研究[J]. 河南医学高等专科学校学报,2015,27(2):119-121.
- [6] 邱春强,祝恒前,符绍辉. 肉桂精油的提取及其抑菌性的研究[J]. 中国调味品,2014,39(11):27-31.
- [7] 夏俊芳,沈玖君,杨婷,等. 四种天然植物源物质抑菌作用研究[J]. 食品工业科技,2016,37(2):98-102.
- [8] 王芳,曹锦轩,潘道东,等. 肉桂精油对成团泛菌和腐生葡萄球菌的抑菌活性及其机理[J]. 食品工业科技,2016,37(19):75-80.
- [9] 张丽,李霆格,杨文汉,等. 茶树油对 2 种农业致病菌的抑菌效果[J]. 热带农业科学,2016,36(3):49-52.
- [10] 南洋,徐鹏,高宁,等. 肉桂的化学成分及抑菌作用探索[J]. 中国调味品,2016,4(3):158-160.
- [11] 李荣,盖旭,姜子涛. 天然调味香料月桂精油化学成分的研究[J]. 2011,36(11):98-101.

收稿日期:2017-01-05