

蜂胶对牙周病致病菌的抑制研究

孙丽娜¹, 宿颖², 李玉晶², 赵静^{1,*}

(1. 中国农业科学院蜜蜂研究所, 北京 100093 2. 首都医科大学附属北京口腔医院, 北京 100050)

摘要: 目的: 探讨几种不同溶剂, 不同浓度的蜂胶溶液对牙周病致病菌(牙龈卟啉单胞菌 Pg、伴放线放线杆菌 Aa、具核梭杆菌 Fn) 的抑制作用; 方法: 滤纸片法, 倍比稀释蜂胶溶液, 比较不同溶剂的蜂胶溶液的抑菌效果, 并找出最小抑制浓度; 结果: 不同溶剂溶解蜂胶抑菌效果不同, 95% 乙醇 > 70% 乙醇 > 甘油溶液 > 水; 作用效果随蜂胶浓度降低而降低; 对实验菌抑制效果 Pg > Fn > Aa; 95% 乙醇溶液, 70% 乙醇溶液溶解的蜂胶溶液对牙龈卟啉单胞菌(Pg), 具核梭杆菌(Fn) 均具有抑制作用, 作用效果随着蜂胶溶液的浓度降低而降低; 高浓度的甘油溶剂蜂胶溶液对实验菌也具有抑制作用; 本研究中水溶液对实验菌没有明显的抑制效果。

关键词: 蜂胶; 抑制作用; 牙周疾病

Study on Antibacterial Activities of Propolis against Periodontal Pathogens

SUN Li-na¹, SU Ying², LI Yu-jing², ZHAO Jing^{1,*}

(1. Bee Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100093, China
2. Beijing Stomatological Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China)

Abstract: Objective: To investigate the antibacterial activities to periodontal pathogens (*Porphyromonas gingivalis*, Pg; *Actinomyces comitans actinobacillus*, Aa; *Fusobacterium nucleatum*, Fn) by propolis in different menstruums of different concentrations. Method: To use filter paper and multiple dilute propolis solutions, so as to compare the effects of the solution of different concentrations, and find the minimum inhibitory concentrations (MIC). Results: The propolis in different menstruums has different effects, in the order: 95% ethanol > 70% ethanol > glycerin solution > water. The effect reduce when the concentration falls. The effects differ on three test pathogens, Pg > Fn > Aa. Propolis solution of 95% ethanol and 70% ethanol shows evidence antibacterial activities on Pg and Fn, and the effects reduce when the concentration falls. High concentration propolis solution of glycerin also shows antibacterial activities on test pathogens. In this research propolis solution of water has no distinct activities.

Key words propolis antibacterial activities; periodontal pathogens

中图分类号: S896.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)07-0044-04

牙周病是口腔主要疾病之一, 是口腔微生物, 尤其是厌氧菌群动态平衡被破坏而引起的菌群失调症, 其特征为多种条件致病菌混和感染的炎症。革兰氏阴性菌已被国内外学者公认为是牙周病主要的致病因子^[1], 牙龈卟啉单胞菌、具核梭杆菌、伴放线放线杆菌等是典型的主要的牙周病致病菌。

蜂胶是一种具有广泛药理作用的天然产物, 毒性远低于抗生素, 所以其抗菌作用已逐渐成为研究的热点。近年来, 国内外有少量有关蜂胶对口腔病菌的体外实验和动物实验报道。为进一步探讨蜂胶对牙周病致病菌的抑制效果, 本研究采用不同溶剂不同浓度的蜂胶溶液对典型的牙周病致病菌进行抑菌实验, 并以

0.16% 洗必泰及 0.28% 三氯羟苯醚作为阳性对照, 各溶剂作为阴性对照。

1 材料与方法

1.1 材料

蜂胶 中国农业科学院蜜蜂所; 牙龈卟啉单胞菌(Pg)、伴放线放线杆菌(Aa)、具核梭杆菌(Fn) 首都医科大学口腔研究所; C D C 培养基; 无水乙醇、甘油、促溶剂、0.16% 洗必泰、0.28% 三氯羟苯醚、蒸馏水。

1.2 方法

1.2.1 蜂胶制备

分别将粗蜂胶溶于 100ml 的 95% 乙醇溶液、70% 乙

醇溶液、50%甘油溶液、水(1%促溶剂)、水中,配制成20g/100ml溶液,然后倍比稀释成10、5、2.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078125g/100ml。

1.2.2 菌液制备

菌群传代培养以纯化菌群:厌氧环境,置于含80% N₂、10% H₂、10% CO₂的厌氧罐中(含还原钯粒),37℃恒温温箱中培养5d,然后接种于CDC培养基;纯化后菌株用无菌生理盐水稀释至每毫升含菌量为10⁶。

1.2.3 滤纸片制备

用双圈牌滤纸经打孔器打成若干直径为5mm的圆形滤纸片,至于121℃高压蒸气下灭菌30min。用微量进样器分别吸取不同蜂胶液15μl,滴加到滤纸片上,干燥后备用。

1.2.4 抑菌实验方法

将高压灭菌后的培养基倒入无菌培养皿中,待冷却凝固后,每平皿加入0.2ml供试菌液,然后用L棒涂布均匀,预打散15min后,用无菌镊子夹取1.2.3方法制备的滤纸片贴在上述含菌的培养基上。然后将各皿置于含80% N₂、10% H₂、10% CO₂的厌氧罐中(含还原钯粒),放入37℃恒温温箱中培养5d后取出,测量其抑菌圈的大小。

以0.16%洗必泰及0.28%三氯羟苯醚作为阳性对照,各个溶剂作阴性对照。

2 结果与分析

实验结果见表1~3。表中数据为各蜂胶液对实验菌抑菌环的直径(mm),“—”表示无抑制。

从表1中可以看出,对牙龈卟啉单胞菌的抑菌圈最大可达11mm,95%乙醇蜂胶溶液对其抑制最小浓度为0.3125g/100ml,甘油蜂胶溶液对其最小抑制浓度为1.25g/100ml,水及水(促溶剂)蜂胶溶液对牙龈卟啉单胞菌无明显作用效果;阴性对照无抑制作用。

从表2中可以看出,对具核梭杆菌抑菌圈最大为9mm,95%乙醇蜂胶溶液对其抑制最小浓度为0.625g/100ml,甘油蜂胶溶液、水及水(促溶剂)蜂胶溶液对具核梭杆菌抑制效果不显著;阴性对照无抑制作用。

从表3中可以看出,各蜂胶溶液对伴放线放线杆菌均无明显作用。阴性对照无抑制作用。

从表1~3中可以看出,不同溶剂溶解蜂胶溶液抑菌效果不同,作用效果依次为95%乙醇>70%乙醇>甘油溶液>水;蜂胶溶液的抑制作用随蜂胶浓度降低而降低;对实验菌抑制效果依次为:牙龈卟啉单胞菌>具核

表1 蜂胶液对牙龈卟啉单胞菌的抑制实验结果
Table 1 Effects of antibacterial activities on Pg

蜂胶液浓度 (g/100ml)	蜂胶液					对照					
	95%乙醇 蜂胶溶液	70%乙醇 蜂胶溶液	50%甘油 蜂胶溶液	水(促溶剂) 蜂胶溶液	水 蜂胶溶液	95% 乙醇	70% 乙醇	50% 甘油	水	三氯羟 苯醚	洗必泰
20	11	10.75	8.25	—	—	—	—	—	—	12	20.33
10	10.25	9.75	7.33	—	—						
5	9.5	9	7	—	—						
2.5	8.5	8.25	7	—	—						
1.25	8	7.5	7	—	—						
0.625	7.5	7	—	—	—						
0.3125	7	—	—	—	—						
0.15625	—	—	—	—	—						
0.078125	—	—	—	—	—						

表2 对具核梭杆菌抑制结果
Table 2 Effects of antibacterial activities on Fn

蜂胶液浓度 (g/100ml)	蜂胶液					对照					
	95%乙醇 蜂胶溶液	70%乙醇 蜂胶溶液	50%甘油 蜂胶溶液	水(促溶剂) 蜂胶溶液	水 蜂胶溶液	95% 乙醇	70% 乙醇	50% 甘油	水	三氯羟 苯醚	洗必泰
20	9	8.83	—	—	—	—	—	—	—	9.5	18
10	8.5	8	—	—	—						
5	8.25	7.25	—	—	—						
2.5	7.5	7	—	—	—						
1.25	7.25	6.5	—	—	—						
0.625	7	—	—	—	—						
0.3125	—	—	—	—	—						
0.15625	—	—	—	—	—						
0.078125	—	—	—	—	—						

表3 对伴放线放线杆菌抑制实验
Table 3 Effects of antibacterial activities on Aa

蜂胶液浓度 (g/100ml)	蜂胶液					对照					洗必泰
	95% 乙醇 蜂胶溶液	70% 乙醇 蜂胶溶液	50% 甘油 蜂胶溶液	水(促溶剂) 蜂胶溶液	水 蜂胶溶液	95% 乙醇	70% 乙醇	50% 甘油	水	三氯羟 苯醚	
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9	15.5
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
1.25	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
0.625	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
0.3125	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
0.15625	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
0.078125	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

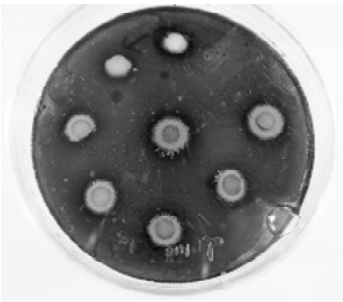
梭杆菌>伴放线放线杆菌。
乙醇溶液只有在浓度为75%时才有最好的杀菌作用，表中可以看出作为溶剂的乙醇溶液没有抑菌作用，并不对抑菌效果产生影响；甘油溶液、水、及水(促溶剂)等阴性对照组均不表现出抑菌活性。

3 讨论

蜂胶中含有许多化学成分，有黄酮类化合物、酸、醇、酚、酯、醚类以及烯、萜、甾类化合物等多种氨基酸、脂肪酸、酶类、维生素、多种微量元素等。蜂胶中的松属素、高良姜素、山奈素，对香豆苯甲酸酯、咖啡酸酯和蜂胶浸出物均有抗菌活性，蜂胶中树脂也有抑菌作用。还有多种黄酮化合物以及挥发油均有抑菌效果^[2]。

从实验结果可看出，乙醇溶剂组蜂胶液抑菌效果最好，且蜂胶液浓度越高抑制作用越强，甘油溶剂蜂胶液组抑菌效果较弱，在高浓度时也表现出抑菌活性，而水及水(促溶剂)溶剂蜂胶液组抑制作用均不明显；阴性对照均无抑制作用。

蜂胶对实验菌抑制效果为：牙龈卟啉单胞菌(Pg)>具核梭杆菌(Fn)>伴放线放线杆菌(Aa)；95%乙醇组蜂胶液对Pg的抑菌圈最大达11mm，对其抑制最小浓度为



逆时针方向蜂胶液浓度依次增加。

图2 70%乙醇蜂胶液对牙龈卟啉单胞菌抑菌圈
Fig.2 Effects of 70% ethanol on Pg of propolis solution

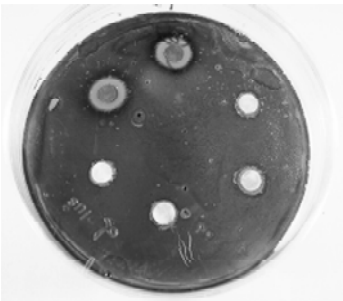
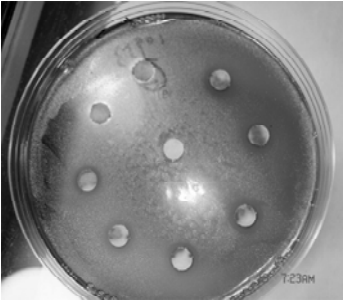


图3 阳性对照组及阴性对照组对牙龈卟啉单胞菌抑菌圈
Fig.3 Effects of positive and negative comparisons on Pg of propolis



逆时针方向蜂胶液浓度依次增加。

图1 95%乙醇蜂胶液对牙龈卟啉单胞菌抑菌圈
Fig.1 Effects of 95% ethanol on Pg of propolis solution



逆时针方向蜂胶液浓度依次增高。

图4 95%乙醇蜂胶液对具核梭杆菌抑菌圈
Fig.4 Effects of 95% ethanol on Fn of propolis solution

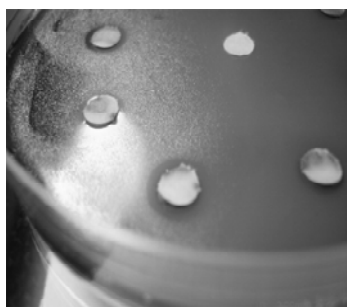


图5 95%乙醇蜂胶液对具核梭杆菌抑菌圈

Fig.5 Effects of 95% ethanol on Pg of propolis solution

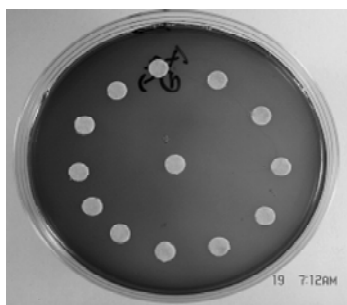


图6 95%乙醇对伴放线放线杆菌无明显抑制效果

Fig.6 Unconspicuous effects of 95% ethanol on Aa of propolis solution

0.3125g/100ml, 70%乙醇蜂胶溶液对其抑制最小浓度为0.625%,甘油蜂胶溶液对其最小抑制浓度为1.25g/100ml; 95%乙醇蜂胶溶液对Fn抑菌圈最大为9mm,对其抑制最小浓度为0.625g/100ml, 70%乙醇蜂胶溶液对其最小抑制浓度为1.25g/100ml;各蜂胶溶液组对Aa均无明显作用。

从实验结果可看出,蜂胶对成年牙周炎的典型致病菌牙龈卟啉单胞菌有明显的抑制作用,而阴性对照组并无任何作用效果,虽然与作为药物的三氯羟苯醚及洗必泰相比,抑菌圈大小还有差距,但蜂胶作为一种天然的试剂,与药物相比具有毒性很低、无副作用的优点。

通常所用的抗菌药物对肝脏、肾脏都有损伤及毒性,抗菌药物所致的肾功能障碍约占急性肾功能衰竭病例的20%左右^[3-4]。蜂胶提取物的毒性低是一直被公认的。Ghisalberti报道指出,俄国学者的研究发现蜂胶提取物对小鼠的LD₅₀为700mg/kg,猫至少可以忍受100mg/kg蜂胶乙醇提取物的皮下给药^[5]。Arvouet Grand等报道蜂胶提取物对小鼠的LD₅₀超过了7340mg/kg^[6],Burdock研究发现,用200~5000mg/kg·d大剂量口服,没有引起实验动物死亡^[7]。蜂胶过敏反应主要由直接接触引起,一般情况下,口服蜂胶几乎不会引起过敏。De Groot等认为对蜂胶过敏主要是对树的芽胞成分过敏^[8]。

蜂胶具有广泛的生理活性和药理作用,已越来越受到人们的普遍重视。我国是养蜂大国,蜂胶资源丰富。蜂疗具有“廉、便、新”的特点,蜂产品产量高,价格低廉,因此蜂胶作为一种口腔药物及保健品其开发前景很广阔,应加强研究与推广应用。

参考文献:

- [1] 曹采方. 牙周病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 35-62.
- [2] 董捷. 无公害蜂产品加工技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 174-176.
- [3] 董宗祈. 抗菌药物的肝毒性反应[J]. 小儿急救医学, 1999, 6(2): 50-51.
- [4] 胡全才. 抗菌药物的肾毒性及其合理应用[J]. 安徽医科大学学报, 1997, 32(4): 436-437.
- [5] GHISALBERTI E L. Propolis: a review[J]. Bee World, 1979, 60: 59-84.
- [6] ARVOUET G A. Propolis extract. Part 6. Subacute toxicity and cutaneous primary irritation index[J]. Journal de Pharmacie de Belgique, 1993, 48: 165-170.
- [7] BURDOCK G A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis(propolis) [J]. Food and Chemical Toxicology, 1998, 36: 347-363.
- [8] DEGROOT A C, WEYLAND J W, NATER J P. Unwanted effects of cosmetics and drugs used in dermatology[M]. 3rd Ed. New York: Elsevier, 1994: 770.

信息

意大利科研发现西红柿皮可制作环保塑料袋

最近,意大利生物化学分子研究所的科研人员研究发现,废弃的西红柿皮可用来制作无污染的可降解塑料袋。

该研究所的研究人员称,西红柿废料尤其是西红柿皮可提取复合糖化物,经过提炼和净化,可转化成为一系列可降解的环保塑料制品,包括人们购物经常使用的塑料袋以及在农田使用的塑料薄膜等。目前,这一研究成果已经成为开发项目,并得到了意大利政府的资金支持,正在那不勒斯市的一些企业中生产。

西红柿废料的再利用将成为一种潜力巨大的经济资源。另据报道,西红柿废料迄今已被成功地用于制造树脂、人造血浆产品及一些医疗用品等。