

# 小鼠皮下脓肿模型及其在中草药抗菌作用研究中的初步运用

刘林祥 宋红月

(中医研究院中药研究所, 北京)

小鼠对化脓性球菌皮下感染有较强抵抗力。通常皮下接种  $10^7$ — $10^8$  以上的金黄色葡萄球菌才能形成局部脓肿。我们利用胃粘液素可以提高动物敏感性<sup>[1]</sup> 的道理将少量化脓性细菌接种于小鼠皮下获得了脓肿病变, 并利用它对一些中草药及部分中草药的粗提物进行了抗菌作用的体内研究。

## 材料及方法

1. 动物: 14—16g 小白鼠, 不分雌雄。将鼠背部毛去掉, 裸露面积约  $2.5\text{ cm}^2$ 。

2. 细菌: 金黄色葡萄球菌(血浆凝固酶阳性)由卫生部药品生物制品检定所供给。为提高毒力, 金黄色葡萄球菌在鼠体传二代。取平皿上的单个菌落接种于 2ml 普通培养肉汤中,  $37^\circ\text{C}$  培养 7 小时后, 取其培养物 0.1 ml 转种于 10ml 肉汤中, 继续培养 17 小时。用平板计数

法计算每毫升活菌数(菌落形成单位, CFU)。用这种方法获得的细菌培养物菌数及菌龄均比较稳定, 而且由于培养时间短, 培养液中外毒素也少。

3. 感染: 将上述 7—17 小时的金黄色葡萄球菌培养物用肉汤培养基或 5% 胃膜素(北京生化制药厂出品)悬液稀释至所需菌量, 于不同菌龄小鼠背部裸露处皮下接种, 每只 0.1ml。

4. 药物制备及给药: ①中草药水煎液: 取一定量药物加水煮 30 分钟, 倾出药液再加水煮 30 分钟, 合并两次药液, 过滤, 直火浓缩至每毫升含生药 1g。②中药粗制剂: 按化学常规法制备。③灌喂药量按体表面积公式<sup>[2]</sup>计算, 每日每鼠约合成人(按体重 50kg, 身长 160cm 计)用量一两, 复方为一剂的量。其他途径给药预先作小鼠急性毒性试验, 取最大耐受量给予。抗菌素为水溶液(新鲜配制), 给药量也按上述

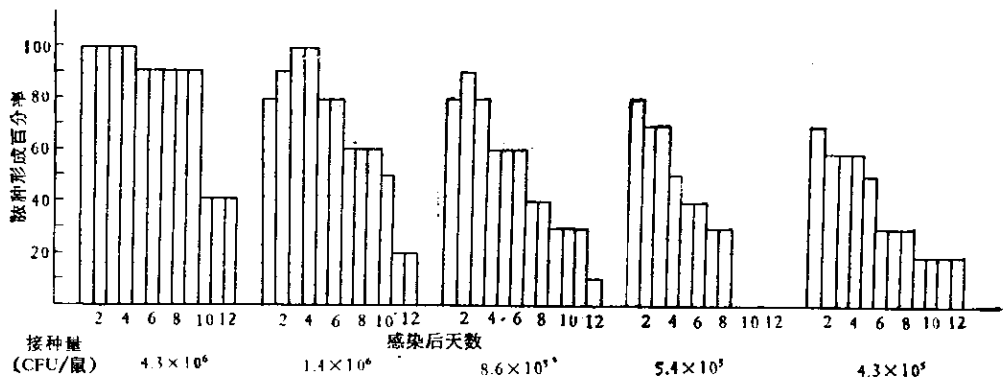


图1 接种菌量与脓肿逐日形成百分率的关系(小鼠, 14—16g, 接种物以肉汤稀释)

公式计算, 每日每鼠给成人一日量。

## 结 果

### 一、影响脓肿形成的因素

1. 接种菌量: 我们试验了每鼠接种  $4.3 \times 10^5$ — $4.3 \times 10^6$  CFU 对脓肿形成的影响, 结果表明随着接种量的增加, 脓肿形成百分率提高, 脓肿持续存在的时间也延长(图1)。

2. 胃膜素: 细菌培养物以胃膜素悬液稀释后, 细菌形成脓肿的能力明显提高, 百分率及持续时间均高(图2)。胃膜素组的脓肿直径为5—7 mm, 隆起3—4 mm, 而肉汤组的分别为3—4 mm及2—3 mm。

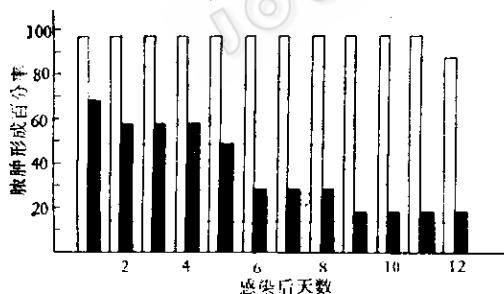


图2 胃膜素对脓肿形成的影响

(小鼠: 14—16g, 接种量:  $4.3 \times 10^5$  CFU  
白柱: 胃膜素组, 黑柱: 肉汤组)

3. 鼠龄: 14—16g 小鼠比 18—22g 者较为敏感, 如后者需要接种  $4.3 \times 10^6$  CFU 才能达到前者接种  $8.6 \times 10^5$  CFU 的水平, 敏感性提高约5倍(图3)。根据上述实验结果, 为使接种量尽量减少, 以免掩盖抑菌力不强的药物作用, 我

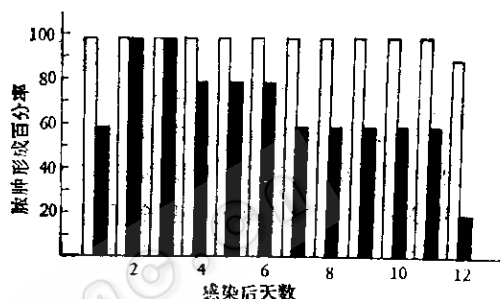


图3 不同鼠龄与脓肿逐日形成百分率的关系

(接种量:  $4.3 \times 10^5$  CFU, 接种物以胃膜素悬液稀释, 白柱: 14—16g 小鼠, 黑柱: 18—22g 小鼠)

们选用体重为 14—16g 的小鼠, 每鼠接种细菌  $4—5 \times 10^5$  CFU。

4. 不同菌株和菌种: 为选择实验用菌株, 我们由临床脓肿患者分离到 11 株革兰氏阳性球菌和 3 株革兰氏阴性杆菌。将各菌培养物稀释至同一浊度(麦氏比浊第 3 管)接种小鼠, 与金黄色葡萄球菌标准菌株进行对比。各菌株形成脓肿的能力差别甚大。球菌大都能形成脓肿, 但除两株与标准菌株相近外, 其余的均较差, 5 天后脓肿即逐渐消失。杆菌中只有一株绿脓杆菌可以形成持续约 10 天的脓肿, 但脓肿形态与金黄色葡萄球菌引起者不同: 隆起不显著, 易发展为溃疡样病变。其余两株不引起小鼠病变。菌株之间的差异不能从标本来源找到答案。用乙型链球菌致生脓肿的试验没有成功。

### 二、细菌培养物的滤液、无菌肉汤及胃膜素悬液的作用

17 及 24 小时的金黄色葡萄球菌培养液经细菌滤器过滤后(无菌试验阴性)在小鼠皮下各接种 0.1ml, 对小鼠没有影响, 注射局部及全身均无反应。说明脓肿的形成完全是细菌在注射局部繁殖的结果。因此, 如果能抑制细菌某些代谢环节(而不是中和毒素)的药物能在局部达到足够的有效浓度, 就可以抑制脓肿的形成。皮下注射无菌肉汤及 5% 胃膜素悬液都不引起脓肿或其他变化。

三、青霉素、金霉素及庆大霉素对脓肿的抑制作用

用无菌肉汤将金黄色葡萄球菌 7—17 小时的培养物稀释, 每毫升含菌  $1 \times 10^6$  CFU, 皮下感染 14—16g 小鼠, 每鼠 0.1ml, 1 小时后, 分别通过腹腔内给予各种抗菌素溶液, 以后 7 及 24 小时再给药两次。各抗菌素均以无菌蒸馏水稀释。浓度为: 青霉素 3000u/ml, 金霉素 2mg/ml, 庆大霉素 400 u/ml。每次每鼠注射 0.5 ml (图 4)。感染后第二天即出现差别, 从第五天开始, 脓肿被显著抑制。用不同浓度抗菌素溶液进行的实验还表明青霉素在 125 u/ml, 庆大霉素在 100 u/ml 以上即可对脓肿形成的抑制率达到 80% 以上。在所有中草药抑菌试验中, 均用青霉素作为阳性对照药物。

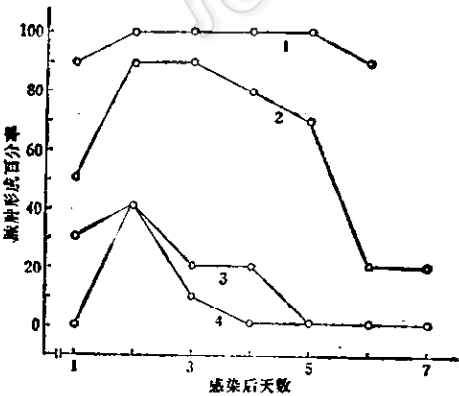


图 4 抗菌素对小鼠皮下脓肿形成的抑制作用  
(1.对照 2.金霉素 3.庆大霉素 4.青霉素)

四、中草药对小鼠皮下脓肿的抑制作用

我们利用这个脓肿模型研究了在平皿扩散试验筛选中有较强抑菌作用的中草药。以中草

药水煎液、复方水煎液和粗提物进行试验。试验中每种药物或制剂至少重复一次, 个别药物重复 5—6 次。在其试验结果中, 除田基王的蒸

表 1 中草药水煎液对小鼠脓肿形成的作用

药 物	浓 度 (g/ml)	给药途径	形成脓肿鼠数/ 实验鼠数
野南瓜	0.12	灌 喂	18/20
山芝麻	0.12	灌 喂	17/20
石榴皮	0.12	灌 喂	16/20
瓜 菱	0.12	灌 喂	14/20
胡枝子	0.12	灌 喂	16/20
牡 蒿	0.12	灌 喂	16/20
鲜柳枝	1.0	灌 喂	17/20
苏 木	1.0	灌 喂	18/20
升 麻	1.0	灌 喂	16/20
升 麻	0.02	腹 腔 内	14/20
升 麻	0.1	肌 肉 内	16/20
升 麻	0.1	皮 下	20/20
泽 兰	1.0	灌 喂	16/20
泽 兰	0.125	腹 腔 内	18/20
泽 兰	0.125	肌 肉 内	18/20
山蜡梅油(乳剂)	0.16%(V/V)	腹 腔 内	18/20
对照(给水)		灌喂或其他途径	17—20/20

给药量: 0.5ml/鼠/次, 每日 2 次, 共 6 次。

表 2 中草药粗提物对小鼠脓肿形成的作用

药 物	制 剂	给 药 量 (每鼠每次)	形成脓肿鼠数/ 实验鼠数
石 榴 皮	酒沉可溶部分	5mg	16/20
	酒沉沉淀部分	10mg	17/20
	去鞣质部分	5mg	16/20
	蒸馏液	0.5ml	15/20
山 芝 麻	酒沉可溶部分	10mg	14/20
	酒沉沉淀部分	10mg	16/20
田 基 王	酒提可溶部分	合生药 100mg	14/20
	酒沉沉淀部分	合生药 500mg	16/20
	蒸馏液	0.5ml	15/20
升 麻	酒提可溶部分	合生药 100mg	14/20
	酒沉沉淀部分	合生药 200mg	14/20
	蒸馏液	0.5ml	14/20
大青木叶	醚提液	合生药 50mg	18/20
	醇提液	合生药 50mg	18/20
蓍 草	醚提物	10mg	16/20
	酸酒液	25mg	20/20

给药途径: 腹腔内, 每日 2 次, 共 6 次。

馏液及醇提物在一次实验中表现出显著的脓肿抑制作用(以后未能重复)外,其余与对照组相比,均无显著差异( $P > 0.05$ ),部分试验结果见表1,2,3。小鼠脓肿形成在青霉素对照组中均被抑制(因表1—3为多次实验综合结果,青霉素组结果从略)。

表3 中药复方水煎液对小鼠脓肿形成的作用

复方名称*	浓 度 (生药 g/ml)	形成脓肿鼠数/ 实验鼠数
仙方活命饮	0.16	17/20
养阴消毒饮	0.96	18/20
公英消毒汤	0.50	16/20
回 妙 汤	0.49	20/20
银翘败毒散	0.50	20/20
疡 五 消	0.47	20/20
五味消毒饮	0.51	18/20

\* 复方组成略。给药途径:灌喂,每鼠每次0.5ml,每日2次,共6次。

## 讨 论

我们现在所建成的脓肿模型比通过腹腔内或静脉内感染造成死亡的模型更接近于人类的自然感染。无论将细菌培养物悬浮于肉汤或胃膜素悬液中接种小鼠后都可以有规律地发展为皮下脓肿,二者的差别在于加胃膜素后提高了细菌的毒力,脓肿体积大,持续时间长,因而可以大大减少接种量,而且便于药物研究。感染

动物经皮下、肌肉或腹腔内给予青霉素;或腹腔内给予庆大霉素、金霉素等都可以显著地抑制皮下脓肿的形成或持续存在。本试验还证明,皮下脓肿的形成是接种细菌在动物体内繁殖的结果,这种7—17小时的培养物中所含毒素量不足以使动物致病,因此一个被试药物是否有效就决定于这个药物能不能抑制细菌在动物体内的生长及代谢。作为研究体内抗菌作用的动物模型,皮下脓肿是适用的。

但是,在中草药抗菌作用的初步研究中,所有在平皿扩散试验中显示出较强抑菌作用的中草药都不能有效地抑制脓肿的形成或促使脓肿更快消失。其原因可能是:平皿试验中,中草药更多地表现为直接毒害作用,而非代谢抑制剂;抑菌的成份在鼠体内不能有足够的浓度达到细菌引起病变的部位;更可能地则是药物给予动物后经历了一系列分解转化的复杂过程,以致失去了对细菌表现抑制作用的成分。还有一种可能则是这样的模型还不能使中草药的抑菌作用得到反映。这个问题我们正在研究中。

## 参 考 文 献

- [1] Olitzki, L.: *Bact. Revs.*, 12: 149, 1948.
- [2] Pinkel, D.: *Cancer. Res.*, 18: 853, 1958.