

• 论 著 •

# 大蒜液对空肠弯曲杆菌的抑菌作用研究\*

蒋小叶, 邱 宏, 邓继家, 田 瑶, 周秀萍<sup>△</sup>

(湖南医药学院, 湖南怀化 418000)

**摘 要:**目的 研究大蒜提取液对空肠弯曲杆菌的抑菌作用, 为进一步利用大蒜资源提供理论依据。方法 直接捣碎大蒜提取大蒜液, 用琼脂纸片扩散法(K-B 纸片法)和肉汤稀释法检测大蒜液对空肠弯曲杆菌的抑菌作用。结果 大蒜液对空肠弯曲杆菌的最小抑菌浓度(MIC)为 40%, 其抑菌活性与浓度呈正相关。结论 大蒜液对空肠弯曲杆菌有较强的抑菌作用。

**关键词:**大蒜液; 空肠弯曲杆菌; 抗菌活性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.13.011

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)13-1829-02

## Study on antibacterial activity of garlic solution against *Campylobacter jejuni*\*

Jiang Xiaoye, Qiu Hong, Deng Jijia, Tian Yao, Zhou Xiuping<sup>△</sup>

(Hunan University of Medicine, Huaihua, Hunan 418000, China)

**Abstract:**Objective To explore the antibacterial activity of garlic solution against *Campylobacter jejuni*, and to provide theoretical basis for further utilization of garlic. **Methods** Mashed garlic and extracted garlic solution. Antimicrobial susceptibility was determined by using K-B disk diffusion test and broth dilution method. **Results** The minimal inhibitory concentration(MIC) of garlic solution against *Campylobacter jejuni* was 40%. It showed positive correlation between bacteriostatic effect and concentration of garlic solution. **Conclusion** Garlic solution has strong bacteriostasis function to *Campylobacter jejuni*.

**Key words:**garlic solution; *Campylobacter jejuni*; antibacterial activity

空肠弯曲杆菌在自然界分布极广, 人类食用被空肠弯曲杆菌污染的食物可引起毒素型肠炎即食物中毒。由于缺乏有效的疫苗, 目前国内外大多采用抗菌药物预防由此引起的食物中毒(急性胃肠炎), 但抗菌药物的应用会对人体造成一定的危害, 并可能造成细菌耐药性的出现。大蒜为单子叶植物百合科葱属植物蒜的鳞茎, 研究发现其对一些常见的病原菌, 如金黄色葡萄球菌、芽孢杆菌、大肠杆菌都有一定的抑菌作用<sup>[1-3]</sup>, 但有关大蒜对空肠弯曲杆菌的抑菌作用尚未见报道。本文旨在研究大蒜对空肠弯曲杆菌的抑菌作用, 从而为预防由空肠弯曲杆菌引起的食物中毒提供新思路, 为进一步利用大蒜这一自然资源提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 样品来源** 本地产白皮蒜, 购自本地农贸市场。

**1.1.2 菌种** 空肠弯曲杆菌 ATCC29428 标准菌株购自南京便诊生物科技有限公司。

**1.1.3 培养基及微需氧产气袋** 哥伦比亚血平板购自广州迪景公司, 布氏肉汤购自广东环凯公司, 微需氧产气袋购自北京九和永泰科技有限公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 大蒜液的制备** 蒜瓣去皮用组织捣碎机破碎, 过滤, 滤液为大蒜原液, 经 0.2 μm 滤膜滤过除菌后于 4℃ 冰箱保存备用。

**1.2.2 空肠弯曲杆菌菌悬液的制备** 挑取空肠弯曲杆菌菌落, 在布氏肉汤中制备成 0.5 麦氏单位的菌悬液, 再用布氏肉汤稀释 10 倍。

**1.2.3 琼脂纸片扩散法(K-B 纸片法)抑菌试验** 用灭菌磷酸盐缓冲液(PBS)将大蒜原液稀释成 100%、80%、60%、40%、20% 不同浓度的溶液。用打孔器将滤纸制成直径为 6 mm 的圆形滤纸片, 干热灭菌后, 在无菌操作下将滤纸片放入不同浓度的大蒜液中, 浸泡 0.5~1 h。用无菌棉签蘸取已配好的菌悬液, 涂布接种于哥伦比亚血平板, 室温放置 5 min, 将浸有大蒜液的滤纸片贴于平板上, 在厌氧罐中放入微需氧产气袋(36±1)℃ 培养 24 h。每个平板贴 3 张纸片, 取抑菌圈直径的平均值评价不同浓度大蒜液的抑菌能力。

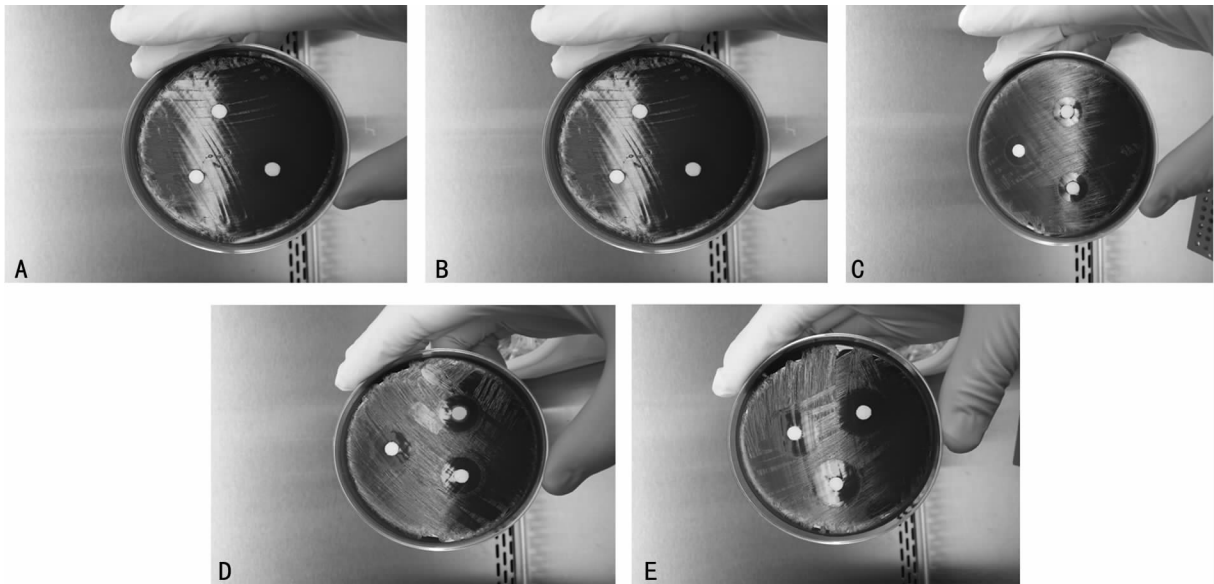
**1.2.4 肉汤稀释法测定最小抑菌浓度(MIC)** 用布氏肉汤将大蒜原液分别稀释成 100%、80%、60%、40%、20% 的溶液, 将 100 μL 浓度为 10<sup>7</sup> cfu/mL 的空肠弯曲杆菌菌悬液接种于不同浓度大蒜液的布氏肉汤培养基中, 同时做培养基阴性对照和不加大蒜液的空肠弯曲杆菌阳性对照, 培养条件同上, 观察细菌生长情况。

## 2 结 果

**2.1 K-B 纸片法结果** 用游标卡尺测量各纸片周围的抑菌环直径, 不同浓度大蒜提取液对空肠弯曲杆菌的抑菌结果见图 1。大蒜液浓度为 20% 时无抑菌圈产生, 而当浓度为 40%、60%、80% 和 100% 时抑菌圈直径分别为 10.2、14.2、17.0、21.3 mm。随着大蒜液浓度的降低其对空肠弯曲杆菌的抑菌能力也逐渐减弱, 40%~100% 的大蒜液对空肠弯曲杆菌有明显抑菌作用。

**2.2 稀释法结果** 通过肉汤稀释法测定大蒜液对空肠弯曲杆菌的 MIC。结果表明, 当大蒜液浓度达到 40% 时, 即可完全抑制空肠弯曲杆菌的生长, 抑菌强度与其浓度呈正相关。

\* 基金项目:2013 年湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划项目([2013]569 号)。 作者简介:蒋小叶, 女, 湖南医药学院检验系学生, 主要从事临床免疫与微生物学检验研究。 <sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: xiupingzhou@163.com。



A~E:大蒜液浓度分别为 20%、40%、60%、80%、100%。

图 1 不同浓度大蒜液 K-B 纸片法结果

3 讨 论

弯曲杆菌是我国乃至全世界引发食物传染性疾病的最常见病菌,其感染症状包括腹泻、痉挛、腹痛和发烧,空肠弯曲杆菌为弯曲杆菌中最常见的致病菌株。1973 年 Butzler 等自腹泻患者粪便中分离得到该病原菌,长 1.5~5 μm,宽 0.2~0.8 μm;菌体轻度弯曲似逗点状、弧形、S 形、螺旋形或海鸥展翅状。空肠弯曲杆菌肠炎的发病率在发达国家超过细菌性痢疾,居于首位<sup>[4]</sup>,而国内最新报道显示,腹泻患者空肠弯曲杆菌检测的阳性率为 7.1%,已经超过志贺菌(5.7%),并有逐渐增加的趋势<sup>[5]</sup>。目前,空肠弯曲杆菌与沙门菌、志贺菌并列为人类三大腹泻致病菌。

多项研究表明,大蒜具有多种功效,包括抑菌、杀菌、杀病毒、降血糖、降脂、降压、防癌、抗癌、保护肝脏、提高免疫力、抗衰老等<sup>[6-8]</sup>。并且大蒜杀菌力强,抗菌谱广不易产生耐药性,不良反应小,具有很强的开发优势。美国华盛顿州立大学等机构最新研究成果指出,当蒜瓣被破碎、挤压时,蒜氨酸与蒜苷酶接触,在磷酸吡哆醛催化下转化形成一类抑菌能力很强的烯丙基二硫和三硫化物等,大蒜中的这些硫化物可有效穿透弯曲杆菌表面的保护膜,并杀灭引起食源性疾病的弯曲杆菌,其效果比常用抗菌药物环丙沙星和红霉素高出 100 倍<sup>[9]</sup>。目前对中药体外抑菌方面的研究主要是采用 K-B 纸片法和肉汤稀释法,本研究也采用这两种方法研究大蒜液对空肠弯曲杆菌的抑菌作用。药敏试验结果往往会受培养基、细菌接种量、药敏纸片等多方面因素的影响,在本实验过程中严格统一标准、实验材料,同等条件下多次重复实验,以保证研究结果客观可信。

K-B 纸片法结果显示,当大蒜液浓度为 20%时,没有出现抑菌圈,随着浓度的增加,抑菌圈直径逐渐增大。空肠弯曲杆菌的耐药性实验受条件的限制,开展不多,目前没有通用的美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准。按照我国《食品卫生微生物检验-空肠弯曲杆菌检验步骤》GB/T 4789.9-2008 的判断标准:如果细菌紧贴着纸片生长则为有抗性;如果纸片周围出现不同程度的细菌抑制生长则为敏感。当大蒜液浓度达到

40%以上时,均为敏感。肉汤稀释法结果显示,当大蒜提取液的浓度为 20%时不能完全抑制空肠弯曲杆菌的生长,当浓度为 40%时,肉汤培养基完全清亮,说明大蒜提取液对空肠弯曲杆菌的 MIC 为 40%。两种方法均证实大蒜提取液的浓度达到 40%以上时在体外能够有效地抑制空肠弯曲杆菌的生长繁殖,其抑菌效果与大蒜液的浓度呈正相关,但关于大蒜提取液在体内的抑菌效果还需进一步的研究。本研究为使用大蒜预防和治疗空肠弯曲杆菌引起的食物中毒提供了理论依据。

参考文献

[1] 姚芹,宋浩,宋京城.大蒜素对金黄色葡萄球菌的抑菌作用研究[J].安徽农业科学,2012,40(20):10593-10594.

[2] 于亮,王梅,姜梅杰,等.大蒜素对耐碳青霉烯类抗菌药物鲍曼不动杆菌体外抑菌作用的研究[J/CD].中华实验和临床感染病杂志:电子版,2013,7(1):50-55.

[3] 林真亭.大蒜素的提取及体外抗菌活性观察[J].海峡药学,2014,26(4):64-66.

[4] 张茂俊,张建中.空肠弯曲菌病与格林-巴利综合征[J].中华流行病学杂志,2008,29(6):618-629.

[5] Li Y,Xie X,Xu X,et al. Nontyphoidal salmonella infection in children with acute gastroenteritis: prevalence, serotypes, and antimicrobial resistance in Shanghai, China[J]. Foodborne Pathog Dis, 2014,11(3):200-206.

[6] 梅四卫,朱涵珍.大蒜素的研究进展[J].中国农学通报,2009,25(9):97-101.

[7] 孔春芳,丁江华.大蒜素抗癌作用与信号传导通路[J].重庆医学,2013,42(10):1175-1177.

[8] 刘伟伟,宋淑敏,李佩毅.健康食材大蒜的功能概况[J].黑龙江科学,2012,3(11):56-58.

[9] 潘洪涛,杨宗兴,赵文萃,等.大蒜素对空肠弯曲杆菌抑菌作用的研究[J].药学实践杂志,2015,33(2):147-149.

(收稿日期:2015-04-22)