

一株痤疮病原菌的分离鉴定及其中药抑制试验

高红梅¹, 朱星成², 施绍蕊², 李清文¹, 杨本寿^{1*}

(1. 曲靖医学高等专科学校, 云南 曲靖 655000; 2. 曲靖市第二人民医院, 云南 曲靖 655000)

摘要: **目的** 鉴定从痤疮患者面部皮损处分离、纯化得到的菌株 CC-3, 探寻对痤疮具有较好体外抑制作用的中药(TCM)组方。**方法** 通过 VITEK 2 全自动细菌鉴定系统生化鉴定、形态特征和基于 16S rDNA 序列构建的系统进化发育树, 确定菌株 CC-3 的种属关系。采用 96 孔平板法, 测定两组中药组方对痤疮丙酸杆菌 CC-3 的最小抑菌浓度(MIC), 通过最小抑菌浓度分析两组中药组方对痤疮的防治效果。**结果** 综合 VITEK2 全自动细菌鉴定系统生化分析、形态观察和 16S rDNA 序列比对结果, 将菌株 CC-3 鉴定为痤疮丙酸杆菌 CC-3。中药组方一和组方二对痤疮丙酸杆菌 CC-3 均有体外抑制作用, 组方一和组方二的最小抑菌浓度分别为 0.01 g/mL 和 0.63 g/mL。**结论** 痤疮患者面部细菌 CC-3 为痤疮丙酸杆菌 CC-3, 组方一和组方二对痤疮丙酸杆菌 CC-3 均有体外抑制作用, 其中组方一的抑菌效果更为显著。

关键词: 形态特征; 生化分析; 分子鉴定; 痤疮丙酸杆菌 CC-3; 最小抑菌浓度

中图分类号: R372; R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2025)04-0045-07

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2025.04.008

Isolation and Identification of a Pathogenic Bacterium of Acne and Antibacterial Tests of Traditional Chinese Medicine

GAO Hongmei¹, ZHU Xingcheng², SHI Shaorui², LI Qingwen¹, YANG Benshou¹

(1. Qujing Medical College, Qujing 655000, China; 2. Second People's Hospital of Qujing, Qujing 655000, China)

ABSTRACT: Objective To identify the strain CC-3 isolated and purified from the facial skin lesions of an acne patient, and to explore the traditional Chinese medicine (TCM) formulas. **Methods** The phylogenetic relationship of strain CC-3 was determined biochemical identification by VITEK -2 fully automatic bacterial identification system and morphological characteristics, and phylogenetic tree based on 16S rDNA sequence. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the CC-3 was determined by 96-well plate method, and the effect of TCM on acne was analyzed by the minimum inhibitory concentration. **Results** The strain CC-3 was identified as *C. acnes* CC-3, based on biochemical analysis of the VITEK 2 fully automatedly bacterial identification system and the morphological characteristics and 16S rDNA sequence alignment. Both formula one and formula two of TCM inhibited *C. acnes* CC-3 in vitro, and the minimum inhibitory concentrations of formulaone and formula two were seperatedly 0.01 g/mL and 0.63 g/mL. **Conclusion** The strain CC-3 was identified as *C. acnes* CC-3. Both formula one and formula two had in vitro inhibitory effects on *C. acnes* CC-3, and the inhibitory effect of formula one was better than that of formula two.

KEY WORDS: morphological characteristics; biochemical analysis; molecular identification; *Cutibacterium acnes* CC-3; minimum inhibitory concentration

痤疮是以粉刺、丘疹、脓疱、囊肿等为主要临床表现, 累及毛囊、皮脂腺的常见慢性炎症性疾病, 影响了全球约 9% 的人口, 在青少年中发病率高达 93%^[1-3], 给

患者造成了焦虑、自卑、人际交往障碍等不容忽视的心理及经济负担^[4-5]。痤疮病因复杂, 痤疮丙酸杆菌的定植及过度增殖导致皮肤菌群失衡、皮脂腺过度分

基金项目: 曲靖医学高等专科学校校级课题(2023Z002)

作者简介: 高红梅(1991-), 女, 讲师, E-mail: 1282461428@qq.com

* **通信作者:** 杨本寿(1971-), 男, 教授, 研究方向: 微生物资源开发与利用, E-mail: yangbenshou@163.com

泌、粉刺形成、毛囊皮脂腺导管角化异常、诱导及维持炎症反应等是引起痤疮的重要因素,痤疮丙酸杆菌的数量与痤疮的严重程度呈正相关^[6-10]。因此,抑制痤疮丙酸杆菌的活力或杀死痤疮丙酸杆菌是治疗痤疮的重要环节之一。

目前西医治疗痤疮主要以抗菌药物、维 A 酸类、激素类药物及物理化学治疗等为主^[3],但长期使用存在副作用和耐药性问题^[11-14]。耐药性已成为一个全球性问题,研究表明超过 54.8% 的痤疮丙酸杆菌出现了耐药,我国部分地区耐药率高达 60%^[15-17]。中药具有多成分、多靶点、多通路、副作用小,不易使致病菌产生耐药性等优点^[18-19]。此外中药对皮肤刺激性小,产生抗药性的可能性小,中药单体成分、提取物和方剂可明显改善皮肤菌群的结构,通过增加有益菌的数量和降低有害菌的数量来维持皮肤菌群的平衡,对皮肤微生态平衡有很好的保护作用,在抗菌研究领域是一个新的研究方向^[20]。本研究从痤疮患者面部皮损处分离、筛选得到病原菌,通过鉴定菌株的种属关系,并采用中药组方进行体外抑菌试验,以期为痤疮的中药治疗及研发外治剂型提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株分离 2023 年 7 月 15 日从痤疮患者面部皮损处分离、筛选得到一株菌株 CC-3。采集方法:采样前嘱患者清洁面部,然后用 75% 医用酒精对取材区域消毒,选取 3~4 个未破损脓疱,以无菌粉刺针圆环端顺毛囊走向压迫皮损周围皮肤,使病变毛囊内的分泌物及角质栓经毛囊口排出,用无菌采样拭子沾取分泌物并保存于拭子套管内的琼脂内。分泌物标本采样后立即进行接种。

1.1.2 培养基和培养条件 菌株 CC-3 分离、纯化和形态观察使用的培养基为哥伦比亚血琼脂平板(*brucella blood agar plate*, BBAP) 培养基(蛋白胨 23 g、可溶性淀粉 1 g、氯化钠 5 g、琼脂 10 g,将上述原料混匀后称取 3.9 g,加热溶解于 1 000 mL 蒸馏水中,分装三角瓶,121 ℃ 高压蒸汽灭菌 15 min,冷却至 50 ℃ 左右时,加入 5% 无菌脱纤维羊血,混匀,倒入无菌平皿)。液体摇床厌氧培养菌株 CC-3 用 BHI 培养基(蛋白胨 10 g、牛肉浸粉 3.0 g、氯化钠 5.0 g,蒸馏水 1 000 mL, pH: 7.3 ± 0.1),将锥形瓶置于厌氧产气

袋,挤出袋内空气,置入厌氧包及氧气指示剂(浅紫色到粉红色状态下为无氧)密封袋口,37 ℃,200 rpm。

1.1.3 试验试剂 Taq 酶及试验中所用培养基组分、各类生化试剂等均购自昆明硕阳科技有限公司。蛋白酶 K (20 mg/mL),DNA 连接酶 (5 U/μL),溶菌酶 (50 mg/mL)等均购自 Sigma 公司;

1.1.4 主要仪器设备 微生物鉴定及药敏分析系统(生物梅里埃美国股份有限公司);生物显微镜(奥林巴斯 bx43);全自动菌落计数仪(北京麦思奇高科技有限公司 MSD-528);基因扩增仪(杭州朗基科学仪器有限公司 MG96G);凝胶成像分析系统(北京麦思奇高科技有限公司 MSD-2000);厌氧培养箱(上海喆图科学仪器有限公司 BSD-YF3600);旋转蒸发仪(天津市津腾实验设备有限公司 GM-0.5B)。

1.2 方法

1.2.1 菌株 CC-3 的分离培养 将采集到的痤疮分泌物以分区划线法接种到哥伦比亚血琼脂平板上。接种好的培养平板用封口膜封好,利用厌氧袋培养法,37 ℃ 培养 24 h。

1.2.2 菌株 CC-3 的生化鉴定 菌种生化鉴定采用的是法国生物梅里埃公司(Bio Merieux)的 VITEK 2 全自动细菌鉴定系统。将 3.0 mL 0.45% 无菌盐水, pH 6.0 加入一个透明的塑料试管中。以无菌棒挑取 3~5 个形态相同的菌落接种至 3.0 mL 无菌盐水管中。混匀菌液,用经过校准的电子比浊仪按相当于 McFarland 3.0 的浊度制备菌悬液。将菌悬液试管和厌氧菌及棒状杆菌鉴定卡片放入卡架中,将载卡架置于仪器中。菌株 CC-3 生化特征参照文献^[21-22]。

1.2.3 菌株 CC-3 形态学观察 在哥伦比亚血琼脂平板上划线培养菌株 CC-3,将平板封口后置于厌氧袋中,37 ℃ 恒温培养 24 h,观察并记录菌株 CC-3 菌落形态特征。同时对菌株 CC-3 进行革兰氏染色,制作染色标本(染色方法参照革兰氏染色液说明书操作)。显微镜下观察细菌的染色结果、形态特征等。结合菌落形态特征,分类检索参照文献^[21-22]。

1.2.4 菌株 CC-3 的分子鉴定 ①总 DNA 的提取:用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取。②克隆宿主菌株、化学试剂:克隆宿主菌大肠杆菌(*Escherichia coli*-DH5α 购自北京百泰克公司。试验中所用生化试剂均购自上海生物工程公司或北京百泰克公司。酶类

购于 Takara 公司。③DNA 相关操作:大肠杆菌中 DNA 相关操作参考《分子克隆实验指南》,DNA 测序由北京百泰克生物公司完成。④引物合成:扩增所用引物为细菌的 16S rDNA 通用引物(由北京百泰克公司合成):27F:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3';1492R:5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'。⑤PCR 扩增 PCR 反应体系为(50 μ L):10 $\times$ PCR 缓冲液 5 μ L,dNTPs(10 mM)1 μ L,引物(100 pmol/ μ L)各 1 μ L,模板 DNA(100 ng/ μ L)1 μ L,Taq 酶(2.5 U/ μ L)1 μ L,补超纯水至 50 μ L。程序设置为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,94 $^{\circ}$ C 变性 1 min,55 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,循环 35 次,72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,4 $^{\circ}$ C 保存。⑥基因测序和系统发育分析:16S rDNA 的 PCR 扩增条件和程序以及 PCR 产物的克隆参照文献[23]进行。测序所得序列输入到 NCBI 中进行 BLAST 比对,获得同源性高菌株的 16S rDNA 序列,通过 MEGA 7.0 软件进行序列相似性分析,并采用 Neighbor-Joining 法模型构建系统进化发育树。

1.2.5 中药抑菌活性检测

1.2.5.1 中药组方乙醇提物制备 使用组方一:大黄 40 g,黄芩 30 g,三棱 30 g,黄连 30 g,醋乳香 30 g,栀子 30 g,贯众 30 g,皂角刺 30 g;组方二:贯众 30 g,重楼 20 g,蒲公英 30 g,浙贝母 30 g,夏枯草 30 g,牡蛎 30 g,蜈蚣 10 g,皂角刺 30 g,黄芩 30 g,龙胆草 30 g,土茯苓 30 g。将组方一、组方二打成药粉混匀后各取 250 g,加 95%乙醇浸泡 48 h,使用旋转蒸发仪浓缩萃取药汁,分别制成浓度为 5 g/mL 和浓度为 10 g/mL 的中药浓缩液。采用试管稀释法,制备不同浓度梯度药物。最后一支试管中不加药物,作为对照组。

1.2.5.2 最小抑菌浓度(MIC)试验 取痤疮丙酸杆菌 CC-3 于 BHI 液体培养基(pH=7.0 $\pm$ 0.2)内,厌氧培养至第三代;取第三代痤疮丙酸杆菌 CC-3,于 2 500 rpm 条件下离心 3 min,去上清,用 BHI 液体培养基清洗 3 次,用 BHI 液体培养基制备成菌悬液。用血球计数板对菌悬液进行计数,使其细菌数为 1 $\times$ 10⁶ cfu/mL,备用。试验分为 4 组,分别为组方一组、组方二组、阳性对照组、阴性对照组,具体分组详见表 1。取 96 孔板,组方一组:根据试验所需数量,每孔加入 100 μ L BHI 液体培养基;之后,取 100 μ L 浓度为 5 g/mL

的组方一提取原液 100 μ L 加入至 96 孔板的第 1 个孔内,混合均匀后,从第 1 个孔内取 100 μ L 至第 2 个孔,以此类推,逐级稀释至第 8 个孔,第 8 个孔混匀后,取出 100 μ L,丢弃。最后加入步骤 2 中准备好的菌液 100 μ L。组方二组同理,其中,组方二浓度为 10 g/mL。阳性对照组:100 μ L BHI 培养液加 100 μ L 菌液,阴性对照组为 200 μ L BHI 液体培养基。以上试验重复 3 次;盖上盖子轻混匀后,厌氧培养 2 d,肉眼观察试验结果,并拍照记录。每组试验重复 3 次。

表 1 体外最低抑菌浓度试验分组

编号	组方一浓度 (g/mL)	组方二浓度 (g/mL)	阳性 对照组	阴性 对照组
1	1.25	2.50	BHI+菌液	BHI
2	0.63	1.25	BHI+菌液	BHI
3	0.31	0.63	BHI+菌液	BHI
4	0.16	0.31	BHI+菌液	BHI
5	0.08	0.16	BHI+菌液	BHI
6	0.04	0.08	BHI+菌液	BHI
7	0.02	0.04	BHI+菌液	BHI
8	0.01	0.02	BHI+菌液	BHI

2 结果

2.1 菌株 CC-3 菌落培养特征 经过 24 h 恒温培养,观察结果显示,菌株 CC-3 在哥伦比亚血琼脂平板上菌落形态呈球形、表面光滑湿润,有明显凸起、乳白色不透明,大小近似针尖。菌落的具体形态特征如图 1 所示。



图 1 菌株 CC-3 的菌落正面图

2.2 菌株 CC-3 生化鉴定结果 经 VITEK 2 全自动细菌鉴定系统鉴定, 结果为 D-半乳糖、D-葡萄糖、D-甘露糖、N-乙酰-D-氨基葡萄糖、亮氨酸芳胺酶、苯丙氨酸芳胺酶等均为阳性, 麦芽三糖、D-麦芽糖、L-阿拉伯糖、D-木糖、蔗糖、 β -甘露糖苷酶、L-吡咯烷酮芳胺酶、酪氨酸芳胺酶等均为阴性。生化鉴定菌株 CC-3 为痤疮丙酸杆菌的概率为 93%。具体结果详见表 2。

2.3 菌株 CC-3 形态观察结果 在 100 倍油镜下观察, 呈球形、表面光滑湿润, 有明显凸起、乳白色不透明, 大小近似针尖, 未发现该菌体具有芽胞、荚膜或鞭毛等结构。在视野中, 这些菌体以“V”字形和“Y”字形的短链状形态排列。此外, 通过革兰氏染色试验, 观察到菌体染色结果为紫色, 是典型的革兰氏阳性菌。具体如图 2 所示。

表 2 菌株 CC-3 的生化鉴定试验

序号	试验项目	结果	序号	试验项目	结果	序号	试验项目	结果
1	D-半乳糖	+	15	N-乙酰-D-氨基葡萄糖	+	27	β -D-岩藻糖苷酶	-
2	亮氨酸芳胺酶	+		5-溴-4-氯-3-吲哚-		28	5-溴-4-氯-3-吲哚-	-
3	ELLMAN	+	16	β -D-葡萄糖苷	-		β -N-乙酰-葡萄糖胺	
4	苯丙氨酸芳胺酶	+	17	尿素酶	-	29	5-溴-4-氯-3-吲哚-	+
5	L-脯氨酸芳胺酶	+		5-溴-4-氯-3-吲哚-			α -D-甘露糖苷	
6	L-吡咯烷酮芳胺酶	-	18	β -D-葡萄糖苷酸	-	30	α -L-岩藻糖苷酶	-
7	D-纤维二糖	-	19	β -半乳糖吡喃糖苷酶吲哚酚	+	31	磷酸酶	-
8	酪氨酸芳胺酶	-	20	α -阿拉伯糖苷酶	-	32	L-阿拉伯糖	-
9	丙氨酸-苯丙氨酸-脯氨酸芳胺酶	-	21	5-溴-4-氯-3-吲哚-	-	33	d-核糖 2	+
				α -D-半乳糖苷		34	苯基磷酸盐	-
10	D-葡萄糖	+	22	β -甘露糖苷酶	-	35	α -L-阿拉伯糖苷	-
11	D-甘露糖	+	23	精氨酸 GP	+	36	D-木糖	-
12	D-麦芽糖	-	24	丙酮酸盐	-	37	GRAM	+
13	蔗糖	-	25	麦芽三糖	-	38	MORPH	-
14	熊果甙	-	26	七叶苷水解	-	39	AERO	-

鉴定结果: 痤疮丙酸杆菌(*Cutibacterium acnes*)

注: “+”表示有反应, “-”表示无反应

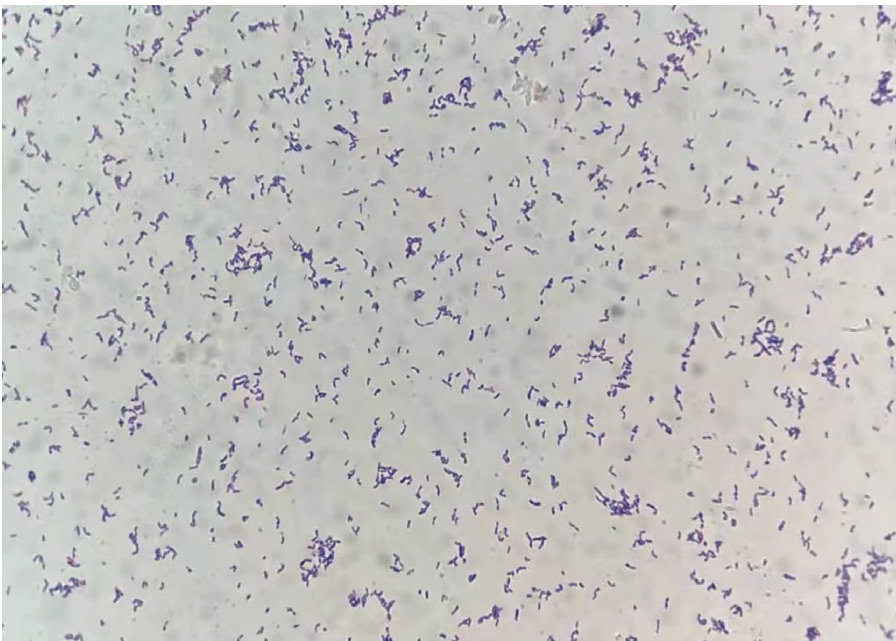


图 2 菌株 CC-3 革兰氏染色形态图(截图)

2.4 系统进化发育分析结果 经 PCR 扩增 16S rDNA 基因片段。然后将扩增出的菌株 CC-3 16S rDNA 片段胶纯化、克隆、抽提质粒并双向测序。将所得到的基因序列在 GenBank 中进行 BLAST 比对, 获得同源性高菌株的 16S rDNA 序列, 选用大肠杆菌 *Escherichia coli* ATCC 25922 作为外类群, 通过 MEGA 7.0 软件进行序列相似性分析, 并采用 Neighbor-Joining 法模

型构建系统进化发育树(图 3)。16S rDNA 序列分析显示菌株 CC-3 与痤疮丙酸杆菌 *Cutibacterium acnes* KCOM 1315、*Cutibacterium acnes* ATCC 6919 以及 *Cutibacterium acnes* DSM 1897 聚在同一分支, 序列同源性均为 99.86%。结合菌落培养特征、细菌革兰氏染色观察结果及生化鉴定结果, 最终将菌株 CC-3 鉴定为痤疮丙酸杆菌 *Cutibacterium acnes* CC-3。

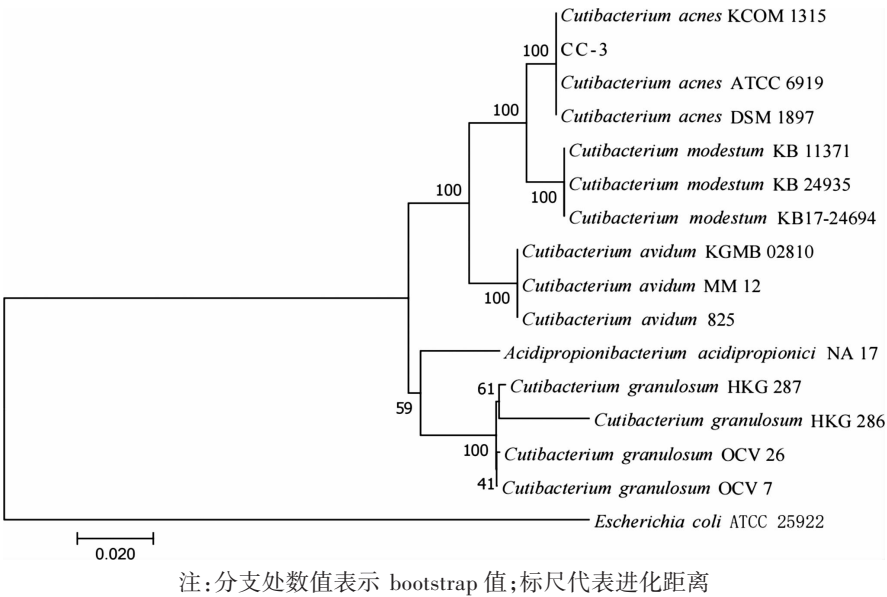


图 3 邻接法构建菌株 CC-3 及相关菌株 16S rDNA 序列的系统发育树

2.5 中药组方对痤疮丙酸杆菌 CC-3 的抑菌试验

试验结果显示, 阳性对照组在光照下溶液浑浊, 阴性对照组在光照下溶液透明, 表明试验有效, 组方一和组方二在光照下溶液透明度较阳性对照组高, 说明组方和组方二对痤疮丙酸杆菌有一定抑菌作用。当组方一浓度 ≥ 0.01 g/mL 时, 肉眼观测均无明显细菌生

长, 表明组方一的最小抑菌浓度为 0.01 g/mL。当组方二的浓度 < 0.63 g/mL 时, 肉眼可见均有明显细菌生长, 当浓度 ≥ 0.63 g/mL 时, 肉眼观测均无明显细菌生长, 表明组方二的最小抑菌浓度为 0.63 g/mL。试验结果表明, 组方一体外抑菌效果较组方二更好, 结果见图 4、表 3。

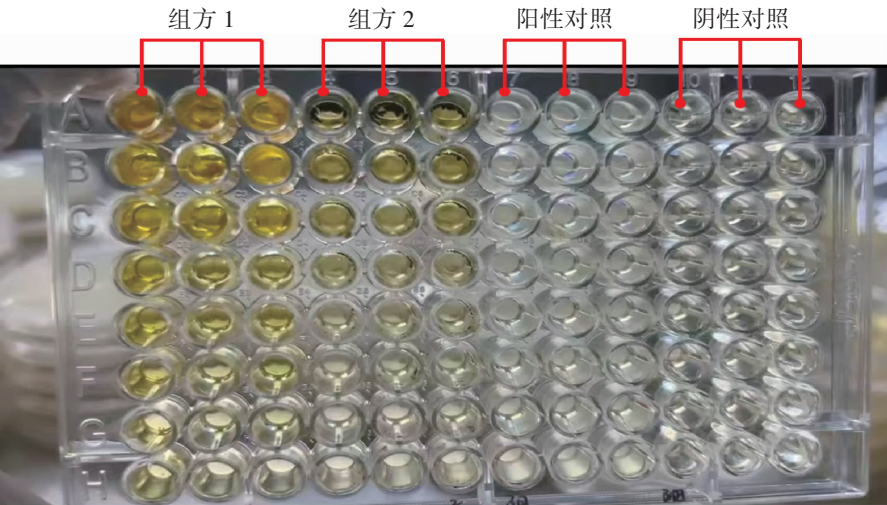


图 4 体外最低抑菌试验结果

表 3 体外最低抑菌浓度试验结果

组别	浓度(g/mL)	MIC
组方一	1.25	—
	0.63	—
	0.31	—
	0.16	—
	0.08	—
	0.04	—
	0.02	—
	0.01	—
组方二	2.50	—
	1.25	—
	0.63	—
	0.31	+
	0.16	+
	0.08	+
	0.04	+
	0.02	+
阳性对照组	—	+
阴性对照组	—	—

注：“+”表示肉眼可见细菌生长，“—”表示肉眼观察无细菌生长

3 讨论

痤疮属于中医学“肺风粉刺”“酒刺”“面鼓疱”范畴。痤疮的主要病机为湿热毒炽、痰瘀互结，治疗多以解毒散结、清利湿热、化痰散瘀等为法^[12]。本次试验中，组方一是在黄连解毒汤的基础上化裁而来。黄连解毒汤出自《肘后备急方》，对于疔毒痈疡治疗颇有良效。方中大黄可清玄府、经络之瘀热、湿毒，《日华子本草》言“并敷，切疮疖病毒”。黄芩擅清上焦实火、黄连长于清中焦及心经之热毒、栀子清三焦实火、贯众凉血解毒。四药合用，可增强清热泻火，燥湿解毒之功。因热毒日久易瘀阻经络，故配伍三棱以破血行气、通络。气行则血行，乳香芳香走窜，“能散一切结留”（《本草经疏》）。诸药并用，共奏清热燥湿、凉血解毒之功。本次试验中，组方二由夏枯消瘰丸加减而来，重在解毒散结消痈。方中蒲公英具有解毒消痈之效，《滇南本草》记载“蒲公英敷诸疮肿毒”。云南道地药材滇重楼消肿止痛之功尤强，龙胆草、贯众清肝胆经湿热，蜈蚣通络散结，能消一切疮疡诸毒，《医学衷中参西录》言“蜈蚣……走窜力最速，内而脏腑，外而经络，凡气血凝集之处皆能开之……凡一切疮疡诸毒皆能消之”。浙贝母、牡蛎、土茯苓清热化痰、软坚散结，可使脓未成即消。皂角刺功善托毒排脓，可使脓成即溃，《本草崇原》曰：“皂角刺祛风，化痰，败毒攻毒……攻

痘疮起发，化毒成浆”。

现代药理研究表明，黄芩与夏枯草均具有明显的体外抑制痤疮丙酸杆菌活性的能力^[19]。重楼提取物可体外抑制痤疮丙酸杆菌、表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌等，值得注意的是，重楼在抑制表皮葡萄球菌方面与在抑制金黄色葡萄球菌活性方面的效果与头孢西丁相近^[24-26]。龙胆草提取物龙胆苦苷可抗多种病原微生物^[27]。黄芩所含的黄芩苷、黄芩素具有抗菌、抗氧化、抑制皮脂分泌、抗病毒的作用^[7,28]。黄芩素可能通过降低痤疮模型组织中 IL-4、MMP-9 的含量，进而调控炎性介质的发展并减少后期痤疮瘢痕的形成^[29]。浙贝母中的去氢贝母碱，通过抑制 MAPK 和 NF-κB 信号通路来减少炎性皮肤反应^[30]。大黄具有抗病原微生物、抗炎、抗毒素等药理作用^[31]。宋坪等在长期的临床观察中，发现采用含有生大黄、乳香等中药制成的面膜对于改善痤疮 PIE 及 PIH 尤为有效^[32]。

本次试验，在患者面部成功分离得到了痤疮病原菌，通过形态特征、VITEK 2 全自动细菌鉴定系统生化鉴定和基于 16S rDNA 序列构建的系统进化发育树，确定了菌株 CC-3 是痤疮丙酸杆菌。目前，有关中药治疗痤疮的研究多集中在单味药，单味中药治疗痤疮虽然取得了较好疗效，但单味中药的作用较为单一，整体辨证遣方是中医治疗痤疮的优势和特色，也是取得较好疗效的关键，故本次试验以组方形式研究其体外抑菌效果。本次试验检测了组方一和组方二对痤疮丙酸杆菌的体外抑菌效果，结果表明，组方一和组方二对痤疮丙酸杆菌的 MIC 分别为 0.01 g/mL 和 0.63 g/mL，抑菌效果与浓度呈正相关，表明组方一和组方二对痤疮丙酸杆菌的生长具有抑制作用，佐证了组方一和组方二的临床疗效。抑菌试验结果显示组方一抑菌效果较组方二好，存在这种差异的原因分析如下：①抑菌试验主要针对单种细菌，忽略了体内不同菌群间的相互作用，可能导致试验结果与临床观察不一致。②中医药治疗痤疮重视恢复人体的阴阳平衡，调动机体免疫功能等以实现痤疮预防和治疗的目的，抑菌试验主要在体外进行，缺乏中药作用于人体后的免疫、生化反应及修饰等方面研究。综上，组方一和组方二对痤疮丙酸杆菌均有体外抑制作用，为今后痤疮的中药治疗及研发外治剂型提供了理论依据。后期将对组方一和组方二进行质谱分析，筛选其中有效的成分，并移植患者皮肤表面菌群的皮肤类器官进一步验证，以进一步探究组方一和组方二外用治疗痤疮的机制。

参考文献:

- [1] 罗丽棋,郑柳琪,卢静怡,等. 来源于植物提取物的群体感应抑制剂抑制痤疮致病菌机制的研究进展[J]. 皮肤性病诊疗学杂志,2024,31(2):142-146.
- [2] 姜晓可,梁丽丽. 寻常痤疮中的微生态机制研究[J]. 中国微生态学杂志,2024,36(2):245-248.
- [3] 鞠强. 中国痤疮治疗指南(2019修订版)[J]. 临床皮肤科杂志,2019,48(9):583-588.
- [4] 陈林姣,涂绍忠,张小敏,等. 1990~2019年中国痤疮疾病负担变化的分析[J]. 中国循证医学杂志,2021,21(11):1252-1258.
- [5] KIM J,PARK T,KIM H J,et al. Inferences in microbial structural signatures of acne microbiome and mycobiome[J]. J Microbiol,2021,59(4):369-375.
- [6] 梁进京,杨新雪,董蕊. 基于正交试验研究外用加味三黄泻心汤配比及微乳凝胶对痤疮的药效学评价[J]. 中华中医药学刊,2025,43(3):85-91,272-277.
- [7] 纪薇,马莉,唐洁,等. 消炎祛痘方对痤疮丙酸杆菌诱导的炎症反应抑制作用研究[J]. 安徽中医药大学学报,2022,41(4):75-79.
- [8] BRIGITTE D,ANGE M D ,AMIR K,et al. The skin microbiome:a new actor in inflammatory acne[J]. American Journal of Clinical Dermatology,2020,21(S1):1-7.
- [9] CONSTANCE M,ALAIN P G,NICOLAS D. Cutibacterium acnes as an opportunistic pathogen:an update of its virulence-associated factors[J]. Microorganisms,2021,9(2):303-303.
- [10] 李巧玲,熊梓汀,杨虹,等. 川白芷提取物对痤疮相关致病菌的抑制作用[J]. 中国皮肤性病学杂志,2021,35(1):26-27.
- [11] 史春雨,唐万娟,杜艳,等. 云南地区耐大环内酯-林可酰胺类痤疮丙酸杆菌的23S rRNA点突变和携带erm基因分析[J]. 中国皮肤性病学杂志,2024,38(6):608-611.
- [12] 宋玮,何鑫,陈明岭,等. 艾儒棣运用角药联合中药面膜治疗痤疮经验[J]. 中医杂志,2024,65(9):892-896.
- [13] 夏晓雪,缪旭,张冬梅,等. 维甲酸类药物的临床应用及对生殖的影响[J]. 皮肤病与性病,2020,42(4):498-501.
- [14] 罗莎,白彦萍,杨皓瑜,等. 白彦萍教授运用调中舟法治疗痤疮的经验[J]. 中国医药导报,2022,19(25):103-105.
- [15] 杨丽玲,唐慧菁,郑武娟,等. 东莞地区痤疮患者痤疮丙酸杆菌对大环内酯-林可酰胺类耐药基因分析[J]. 中国皮肤性病学杂志,2022,36(9):1008.
- [16] 毛海婵,郑武娟,曾文军,等. 外排泵抑制剂对耐药痤疮丙酸杆菌的体外作用[J]. 中国皮肤性病学杂志,2023,37(5):530-533.
- [17] 吴炜,李燕,曾招林. 痤疮的治疗研究进展[J]. 赣南医学院学报,2022,42(12):1323-1329.
- [18] 栾飞,彭利霞,雷紫琴,等. NLRP3炎症小体介导的细胞焦亡与心肌缺血再灌注损伤的关系及中医药干预策略[J]. 中药药理与临床,2022,38(4):216-228.
- [19] 张月佳,梁思欣,张嘉嘉,等. 20种中药对痤疮丙酸杆菌的体外抑菌作用研究[J]. 医学理论与实践,2021,34(10):1630.
- [20] 管咏梅,王舒慧,赵氏淳,等. 中药对皮肤微生态调节作用的研究进展[J]. 中华中医药学刊,2023,41(2):9-13.
- [21] 布坎南 R E,吉本斯 N E. 伯杰细菌鉴定手册(8版)[M]. 中国科学院微生物研究所译. 北京:科学出版社,1984.
- [22] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,2001.
- [23] 杨本寿,尹敏,肖正群,等. 自溶链霉菌遗传操作研究[J]. 云南大学学报(自然科学版),2010,32(6):724-732.
- [24] 汪玉梅,范倩,刘柏汝,等. 重楼不同皂苷成分对痤疮相关致病菌的体外抑菌作用研究[J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志,2022,21(3):225-227.
- [25] 秦华萍,林燕,赵丽娟,等. 苓楼合剂对兔耳痤疮模型病理变化及血清睾酮、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的影响[J]. 云南中医药大学学报,2024,47(1):51-55.
- [26] 万春梅,石春蕊,廖蓓,等. 中药金贯蓝提取物对寻常痤疮相关致病菌的体外抑菌作用[J]. 安徽医药,2023,27(7):1302-1306.
- [27] 李生浩,李俊义,武昆利,等. 龙胆苦苷的药理作用及分子机制研究进展[J]. 昆明医科大学学报,2020,41(1):158-162.
- [28] 杨琳,陈敏,曹婷. 龙胆泻肝汤加减联合火针治疗女性迟发性痤疮疗效观察[J]. 四川中医,2022,40(7):143-145.
- [29] 刘婧,朱鹏,郑婷,等. 黄芩素对痤疮模型大鼠局部组织IL-4、MMP-9的影响[J]. 中国中医基础医学杂志,2021,27(10):1572-1574.
- [30] 王欣,景慧玲,李静怡,等. 止痛消炎膏治疗聚合性痤疮的临床观察及对皮肤屏障功能的影响[J]. 湖南中医药大学学报,2023,43(10):1864-1867.
- [31] 张桥,陈艳琰,乐世俊,等. 大黄炮制的历史沿革及对化学成分、传统药理作用影响的研究进展[J]. 中国中药杂志,2021,46(3):539-551.
- [32] 孙楠,钟晓明,董芮,等. 祛斑退红中药面膜治疗痤疮炎症后红斑及色素沉着的临床观察[J]. 中华中医药杂志,2023,38(8):3962-3967.

(收稿日期:2024-09-09)