

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2019.04.08

葛根芩连汤对感染大肠杆菌小鼠血常规、血液内毒素及炎性细胞因子含量的影响

王新¹, 张巍巍¹, 杨婧¹, 丛霞¹, 秦志华¹,
宋学文², 张林林¹, 郭沛¹, 单虎^{1*}

(青岛农业大学动物医学院, 山东青岛 266109)

[收稿日期] 2018-11-08 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2019) 04-0052-07 [中图分类号] S853.74

[摘要] 旨在研究葛根芩连汤预防及治疗感染大肠杆菌 K₈₈ 小鼠的血常规、血液内毒素及炎性细胞因子含量的影响。统计小鼠的死亡率, 血常规检测小鼠血液中白细胞、红细胞及血小板的变化, 以及采用显色基质萤试剂法和 ELISA 方法检测感染小鼠血液里内毒素及炎性因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的含量变化。结果显示, 预防试验中葛根芩连汤组小鼠死亡率为 20%, 治疗试验中葛根芩连汤组死亡率为 30%, 均极显著地低于模型组 ($P < 0.01$), 且与氟苯尼考组相比没有差异; 葛根芩连汤组小鼠血液中白细胞指标均极显著地低于模型组 ($P < 0.01$), 红细胞及血小板指标均极显著地高于模型组 ($P < 0.01$); 葛根芩连汤组小鼠白细胞、中性粒细胞及血小板数目极显著地高于氟苯尼考组 ($P < 0.01$), 葛根芩连汤组小鼠内毒素及 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的含量均极显著地低于模型组 ($P < 0.01$)。结果表明: 葛根芩连汤对感染大肠杆菌 K₈₈ 小鼠具有预防与治疗作用, 而且在抑制早期炎性因子的释放, 降低机体炎症反应水平方面优于氟苯尼考。

[关键词] 大肠杆菌 K₈₈; 葛根芩连汤; 死亡率; 内毒素; 炎性因子

Effect of Gegen Qinlian Decoction on Blood Routine, Blood Endotoxin and Inflammatory Cytokines in *E.coli* Infected Mice

WANG Xin¹, ZHANG Wei-wei¹, YANG Jing¹, CONG Xia¹, QIN Zhi-hua¹,
SONG Xue-wen², ZHANG Lin-lin¹, GUO Pei¹, SHAN Hu^{1*}

(Qingdao Agricultural University, College of Veterinary Medicine, Qingdao 266109, China)

Corresponding author: SHAN Hu, E-mail: shanhu67@163.com

Abstract: The purpose of this study was to investigate the effects of Gegen Qinlian Decoction on the prevention and treatment of blood routine, blood endotoxin and inflammatory cytokines in mice infected with *E.coli* K88. The mortality of mice was counted. The changes of white blood cells, red blood cells and platelets in the blood of mice

基金项目: 青岛市海洋经济创新发展示范城市项目计划, 年产供 1000 万以上动物用海洋微生物疫苗和绿色兽药创制应用与示范; 青岛市自主创新计划-应用研究专项 (智库基金), 中药提取物制备及免疫增强机制研究 (16-10-1-1-jch)

作者简介: 王新, 副教授, 博士, 从事中兽医学方向研究。

通讯作者: 单虎。E-mail: shanhu67@163.com

were routinely detected by blood. The endotoxin and inflammatory factors TNF- α and IL in the blood of infected mice were detected by chromogenic matrix sputum reagent and ELISA. 1β , IL-6 content changes. The results showed that the mortality rate of the Kudzu Qilian Decoction group was 20% in the prevention test, and the mortality of the Gegen Qinlian Decoction group was 30% in the treatment trial, which was significantly lower than that of the model group ($P < 0.01$), and with fluorine. There was no difference in the benidazole group; the blood leukocyte index in the mice of Gegenqilian decoction group was significantly lower than that in the model group ($P < 0.01$), and the red blood cell and platelet indexes were significantly higher than the model group ($P < 0.01$). The number of white blood cells, neutrophils and platelets in the Gegen Qilian Decoction group was significantly higher than that in the florfenicol group ($P < 0.01$). The endotoxin and TNF- α , IL- in the Gegen Qinlian Decoction group. The contents of 1β and IL-6 were significantly lower than those in the model group ($P < 0.01$). The results showed that: Gegen Qilian Decoction has preventive and therapeutic effects on *E. coli* K88 mice, and it is superior to florfenicol in inhibiting the release of early inflammatory factors and reducing the level of inflammatory response.

Key words: enterotoxigenic *Escherichia coli* K₈₈; Gegen Qinlian Decoction; mortality rate; endotoxin; inflammatory factor

产肠毒素大肠杆菌 (*Enterotoxigenic Escherichia coli*, ETEC) 是引发断奶仔猪腹泻的重要病原菌之一,黏附性菌毛 K₈₈ 是主要致病因子^[1-2]。目前临床上治疗仔猪大肠杆菌性腹泻是以抗生素为主,但是由于抗生素的不规范使用导致大肠杆菌多重耐药、交叉耐药及药物残留的问题日趋严重,不仅造成环境的污染,而且严重威胁着人类的身体健康^[1]。而中医在上千年的发展进程中产生了大量“对症下药、辨证施治、标本兼治”的经典方剂,葛根芩连汤就是经典方剂之一,其治疗菌痢、肠伤寒等疾患中疗效显著,同时中草药具有低残留、不易产生耐药性等优点,受到国内外专家学者的关注^[3-4]。本研究探讨葛根芩连汤对于感染大肠杆菌小鼠血常规、血液内毒素及炎性细胞因子含量的影响,旨在为临床应用葛根芩连汤防治仔猪大肠杆菌性腹泻提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验试剂 氯化钠注射液购自贵州天地药业有限责任公司,批号 H52020070; TNF- α 、IL- 1β 和 IL-6 酶联免疫检测试剂盒 (48T) 均购自南京建成生物工程研究所,批号分别为 2018012501、2018012503、2018012509; 内毒素检测试剂盒购自

厦门鲎试剂生物科技股份有限公司,批号 171018。

1.1.2 试验药物 葛根、黄芩、黄连、炙甘草均购自山东省青岛市城阳人民医院,批号分别为 104303、104301、140103、104120; 氟苯尼考溶液购自天津市诺维动物药业有限公司,批准文号兽药字(2014)020132111。

1.1.3 试验菌株 大肠杆菌 K₈₈ (青岛农业大学动物医学院临床诊断学实验室惠赠)

1.1.4 试验动物 SPF 级昆明系小鼠,体重 18~22 g, 购自山东省济南市朋悦实验动物繁育有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 药液制备 参照《中华人民共和国药典》中记载的中药煎煮方法,“先煮葛根、后纳诸药”。称取所需中药,用分体式电子智能保健煲煎煮两次。第一次煎煮加入 8 倍量的水将药材浸泡 30 min, 加热煎煮 1 h, 将药液经四层纱布过滤后装入 1000 mL 烧杯中,第二次加 4 倍量的水,加热 0.5 h, 经四层纱布过滤后,将两次煎煮药液合并,浓缩为 1 g/mL 的中药原液,高压蒸汽灭菌后放入 4 ℃ 冰箱备用。

1.2.2 葛根芩连汤预防试验和治疗试验

1.2.2.1 分组及试验设计 预防试验:选取健康且体重相近昆明系小鼠 80 只,随机分为葛根芩连汤

组、氟苯尼考组、模型组、对照组,每组 20 只,雌雄各半。葛根芩连汤组及氟苯尼考组小鼠攻毒之前连续给药 5 d,并分别灌服 1 mL 葛根芩连汤(浓度 1 g/mL)、1% 的氟苯尼考溶液 1 mL,模型组和对照组灌服等量的生理盐水。葛根芩连汤组、氟苯尼考组和模型组分别于最后一次给药 3 h 后腹腔注射 0.1 mL 大肠杆菌菌液(5×10^7 CFU/mL),对照组注射等量的生理盐水。

治疗试验:试验分组同预防试验,葛根芩连汤组、氟苯尼考组和模型组分别于第一次给药前 3 h,腹腔注射 0.1 mL 大肠杆菌 K_{88} 菌液(5×10^7 CFU/mL),对照组注射等量的生理盐水。攻毒 3 h 后葛根芩连汤组灌服浓度 1 mL 葛根芩连汤(浓度 1 g/mL),氟苯尼考组灌服 1% 的氟苯尼考溶液 1 mL,模型组、对照组灌服等量的生理盐水。

1.2.2.2 样品采集与保存 小鼠攻毒 12 h 后进行眼眶后静脉丛采血,将血液采集至肝素钠抗凝管中用于血常规检测,另采集血液至 1.5 mL 离心管中,室温放置 30 min 后 3500 rpm/min 离心 10 min,收集血清于 -20 °C 保存,并保证避免反复冻融。

1.3.1 小鼠死亡率的统计 记录并统计攻毒后 48 h 内各组的死亡数以及死亡率的动态变化。

1.3.2 血常规指标检测 检测小鼠血液中白细胞、红细胞、血小板等血常规指标。

1.3.3 血液中细菌内毒素的含量 参照终点显色法显色基质鲎试剂盒说明书进行内毒素的含量测定。

1.3.4 血液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的含量 参照酶联免疫检测试剂盒说明书,检测血清中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的含量。

1.4 数据处理 数据采用 SPSS22.0 统计软件中 ANOVA(one way analysis of variance)法,用 Duncan 法进行均值的多重比较。结果用 $x \pm s$ 表示。

2 结果与分析

2.1 小鼠死亡数和死亡率的动态变化 根据表 1 可知,预防和治疗试验中,模型组与对照组、葛根芩连汤组、氟苯尼考组相比死亡总数及死亡率均差异极显著($P < 0.01$);预防试验中,氟苯尼考组死亡率低于葛根芩连汤组,差异不显著($P > 0.05$);治疗试验中,氟苯尼考组死亡率高于葛根芩连汤组,差异不显著($P > 0.05$)。

表 1 小鼠死亡总数与死亡率的变化 ($n = 20$)

Tab 1 The dynamic changes of death and mortality in mice ($n = 20$)

组别	0~12 h	12~24 h	24~36 h	36~48 h	死亡总数	死亡率	
预防试验	葛根芩连汤组	1	2	0	1	4 ^b	20% ^b
	氟苯尼考组	0	2	0	0	2 ^b	10% ^b
	模型组	13	1	0	0	14	70%
	对照组	0	0	0	0	0 ^b	0% ^b
治疗试验	葛根芩连汤组	4	2	0	0	6 ^b	30% ^b
	氟苯尼考组	4	3	0	0	7 ^b	35% ^b
	模型组	13	3	0	0	16	80%
	对照组	0	0	0	0	0 ^b	0% ^b

与模型组相比,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$

Compared with model group, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$

2.2 葛根芩连汤对感染大肠杆菌 K_{88} 小鼠血常规指标的影响 由表 2 可知,预防试验中,模型组的白细胞、中性粒细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞的数目均极显著地高于对照组($P < 0.01$),淋巴细胞数目显著地高于对照组($P < 0.05$)。

葛根芩连汤组和氟苯尼考组白细胞、中性粒细胞、单核细胞数目均极显著地高于对照组($P < 0.01$),并且极显著地低于模型组($P < 0.01$),嗜酸性粒细胞数目与对照组相比显著增高($P < 0.05$),同时极显著低于模型组($P < 0.01$)。模型组以及葛根芩连汤组的

红细胞数目、血红蛋白浓度极显著地低于对照组 ($P<0.01$); 但葛根芩连汤组红细胞数目、血红蛋白浓度显著地高于模型组 ($P<0.05$)。氟苯尼考组的红细胞数目与对照组没有差异, 血红蛋白浓度显著高于对照组 ($P>0.05$), 血小板数目, 与对照组相比极显著地降低 ($P<0.01$), 而与葛根芩连汤组相比极显著升高 ($P<0.01$); 氟苯尼考组血小板数目与模型组没有差异。

由表 3 可知, 与对照组相比, 模型组白细胞、中性粒细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞和淋巴细胞数目显著地增高 ($P<0.05$), 红细胞数目、血红蛋白浓

度、血小板数目极显著地降低 ($P<0.01$); 葛根芩连汤组的白细胞、中性粒细胞、单核细胞的数目极显著高于对照组 ($P<0.01$), 并且极显著低于模型组 ($P<0.01$), 同时淋巴细胞、嗜酸性粒细胞数目也均极显著 ($P<0.01$) 低于模型组, 以及血红蛋白浓度、血小板数目均显著地低于对照组 ($P<0.05$), 且均显著高于模型组 ($P<0.05$); 氟苯尼考组中性粒细胞数目与葛根芩连汤组相比差异极显著 ($P<0.01$), 并且极显著高于葛根芩连汤组, 血小板数目与葛根芩连汤组相比差异显著 ($P<0.05$), 并且显著低于葛根芩连汤组。

表 2 预防试验小鼠血液中白细胞、红细胞、血红蛋白及血小板的数目 ($n=20$)

Tab 2 The content of WBC, RBC, Hb and platelet in blood of mice in prevention group ($n=20$)

	葛根芩连汤组	氟苯尼考组	模型组	对照组
白细胞数目 ($10^9/L$)	2.974±0.643 ^{Bb}	2.275±0.601 ^{Cc}	4.182±0.348 ^{Aa}	1.718±0.262 ^{Dd}
中性粒细胞数目 ($10^9/L$)	2.108±0.247 ^{Bb}	0.703±0.447 ^{Cc}	3.052±0.356 ^{Aa}	0.308±0.1 ^{Dd}
淋巴细胞数目 ($10^9/L$)	1.316±0.119 ^{ABb}	0.793±0.671 ^{Bb}	2.244±0.938 ^{Aa}	1.358±0.298 ^{ABb}
单核细胞数目 ($10^9/L$)	0.012±0.004 ^{Bb}	0.01±0.014 ^{Bc}	0.046±0.009 ^{Aa}	0±0 ^{Cd}
嗜酸性粒细胞数目 ($10^9/L$)	0.004±0.005 ^{Bbc}	0.005±0.006 ^{Bb}	0.022±0.022 ^{Aa}	0.002±0.004 ^{Cc}
嗜碱性粒细胞数目 ($10^9/L$)	0.036±0.009 ^{Bb}	0.028±0.015 ^{Bb}	0.076±0.009 ^{Aa}	0.03±0.016 ^{Bb}
红细胞数目 ($10^{12}/L$)	5.892±0.079 ^{Bb}	6.435±0.432 ^{AaBb}	4.904±0.471 ^{Cc}	6.894±0.577 ^{Aa}
血红蛋白浓度 (g/L)	111.4±4.159 ^{Bbc}	116.75±7.805 ^{Bb}	103±1.871 ^{Cc}	128.4±4.450 ^{Aa}
血小板数目 ($10^9/L$)	528.25±10.720 ^{Aa}	388.5±316.264 ^{Bb}	335±182.169 ^{Bb}	545±164.804 ^{Aa}

同行数据肩标小写字母相同表示差异不显著 ($P>0.05$), 小写字母不同大写字母相同表示差异显著 ($P<0.05$), 大小写字母均不同表示差异极显著 ($P<0.01$)

The same row compares, the same lowercase letter means no significant difference ($P>0.05$), different lowercase letter means significant differences ($P<0.05$). And with different capital letter superscripts mean extremely significant difference ($P<0.01$)

表 3 治疗试验小鼠血液中白细胞、红细胞、血红蛋白及血小板的数目

Tab 3 The content of WBC, RBC, Hb and platelet in blood of mice in treatment group

	葛根芩连汤组	氟苯尼考组	模型组	对照组
白细胞数目 ($10^9/L$)	3.342±0.315 ^{Bb}	3.333±0.460 ^{Bb}	5.02±1.178 ^{Aa}	2.784±0.662 ^{Dd}
中性粒细胞数目 ($10^9/L$)	1.59±0.618 ^{Cc}	2.145±0.101 ^{Bb}	2.32±0.178 ^{Aa}	0.856±0.369 ^{Dd}
淋巴细胞数目 ($10^9/L$)	1.326±0.101 ^{Bb}	1.475±0.076 ^{ABb}	1.84±0.05 ^{Aa}	1.378±0.374 ^{ABb}
单核细胞数目 ($10^9/L$)	0.026±0.011 ^{Bb}	0.03±0.018 ^{Bb}	0.067±0.023 ^{Aa}	0.006±0.013 ^{Cc}
嗜酸性粒细胞数目 ($10^9/L$)	0.004±0.005 ^{Bb}	0.003±0.005 ^{Bb}	0.027±0.006 ^{Aa}	0.002±0.004 ^{Bb}
嗜碱性细胞数目 ($10^9/L$)	0.038±0.020 ^{Aa}	0.045±0.029 ^{Aa}	0.0566±0.006 ^{Aa}	0.03±0.012 ^{Aa}
红细胞数目 ($10^{12}/L$)	6.58±0.375 ^{AaBb}	5.478±0.825 ^{Bbc}	5.027±0.443 ^{Bc}	7.6±1.101 ^{Aa}
血红蛋白浓度 (g/L)	117.2±4.025 ^{ABb}	111.25±5.737 ^{Bbc}	100±6.557 ^{Bc}	135.6±16.380 ^{Aa}
血小板数目 ($10^9/L$)	677.4±52.224 ^{ABb}	445.5±46.508 ^{BCc}	378.333±36.019 ^{Cc}	875.6±206.974 ^{Aa}

同行数据肩标小写字母相同表示差异不显著 ($P>0.05$), 小写字母不同大写字母相同表示差异显著 ($P<0.05$), 大小写字母均不同表示差异极显著 ($P<0.01$)

The same row compares, the same lowercase letter means no significant difference ($P>0.05$), different lowercase letter means significant differences ($P<0.05$). And with different capital letter superscripts mean extremely significant difference ($P<0.01$)

2.3 小鼠血液中细菌内毒素的含量变化 由表 4 可知,预防试验中,对照组、葛根芩连汤组及氟苯尼考组的内毒素含量极显著低于模型组 ($P<0.01$),且葛根芩连汤组极显著高于对照组 ($P<0.01$),氟苯尼考组与对照组相比差异不显著,葛根芩连汤组与氟苯尼考组相比差异不显著。治疗试验中,对照组和葛根芩连汤组的内毒素含量极显著低于模型组 ($P<0.01$),且葛根芩连汤组极显著高于对照组 ($P<0.01$);氟苯尼考组的内毒素含量与模型组含量差异显著 ($P<0.05$),与对照组相比差异极显著 ($P<0.01$),并且极显著高于对对照组 ($P<0.01$)。

2.4 小鼠血液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的含量变化 由表 5 可知,预防试验中,模型组 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量均极显著高于其它三组 ($P<0.01$);与对照组相比,葛根芩连汤组三种炎症因子的含量均显著地降低 ($P<0.05$),氟苯尼考组与对照组无显著性差异 ($P>0.05$);氟苯尼考组 IL-1 β 、IL-6 显著高于葛根芩连汤组 ($P<0.05$),氟苯尼考组 TNF- α 极显

著高于葛根芩连汤组 ($P<0.01$)。治疗试验中,模型组 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的含量均极显著地高于其它三组 ($P<0.01$);葛根芩连汤组、氟苯尼考组 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的含量与对照组相比均差异不显著 ($P>0.05$);葛根芩连汤组与氟苯尼考组三种炎症因子之间均差异不显著 ($P>0.05$)。

表 4 各组小鼠血液中细菌内毒素的含量 (EU/mL)

Tab 4 The content of bacterial endotoxin in every group (EU/mL)

组别/LPS	预防试验	治疗试验
葛根芩连汤组	0.689±0.015 ^{Bb}	0.666±0.222 ^{Bc}
氟苯尼考组	0.472±0.145 ^{Bbc}	1.608±0.106 ^{Aa}
模型组	1.544±0.069 ^{Aa}	1.275±0.155 ^{Ab}
对照组	0.151±0.205 ^{Cc}	0.060±0.022 ^{Cd}

同列数据肩标小写字母相同表示差异不显著 ($P>0.05$),小写字母不同大写字母相同表示差异显著 ($P<0.05$),大小写字母均不同表示差异极显著 ($P<0.01$)

The same column compares, the same lowercase letter means no significant difference ($P>0.05$), different lowercase letter means significant differences ($P<0.05$). And with different capital letter superscripts mean extremely significant difference ($P<0.01$)

表 5 小鼠血液中炎症因子的含量 (ng/L)

Tab 5 The content of inflammatory factors (ng/L)

组别	TNF- α	IL-1 β	IL-6	
预防试验	葛根芩连汤组	136.157±3.029 ^{Cc}	39.302±3.207 ^{Bc}	91.263±3.239 ^{Bc}
	氟苯尼考组	152.298±5.332 ^{Bb}	45.615±2.095 ^{Bb}	96.411±4.649 ^{Bbc}
	模型组	190.843±5.871 ^{Aa}	70.518±2.283 ^{Aa}	151.195±1.877 ^{Aa}
	对照组	145.846±5.585 ^{BbC}	46.588±2.567 ^{Bb}	98.267±3.181 ^{Bb}
治疗试验	葛根芩连汤组	141.297±5.13 ^{Bb}	32.725±2.845 ^{Bb}	43.072±2.771 ^{Bb}
	氟苯尼考组	148±2.186 ^{Bb}	31.989±2.441 ^{Bb}	48.367±2.79 ^{Bb}
	模型组	185.61±4.084 ^{Aa}	65.318±3.45 ^{Aa}	85.985±5.307 ^{Aa}
	对照组	145.316±4.003 ^{Bb}	34.701±1.787 ^{Bb}	45.6±1.568 ^{Bb}

同列数据肩标小写字母相同表示差异不显著 ($P>0.05$),小写字母不同大写字母相同表示差异显著 ($P<0.05$),大小写字母均不同表示差异极显著 ($P<0.01$)

The same column compares, the same lowercase letter means no significant difference ($P>0.05$), different lowercase letter means significant differences ($P<0.05$). And with different capital letter superscripts mean extremely significant difference ($P<0.01$)

3 讨论与结论

3.1 葛根芩连汤对小鼠死亡率的影响 郭莎莎^[5]、王华龙^[6]研究发现葛根芩连汤可以有效地治疗大肠杆菌性腹泻,治愈率为 98.45%。本试验中葛根芩连汤表现出了较好的预防和治疗大肠杆菌病的作用,并且预防效果接近于氟苯尼考,治疗效

果优于氟苯尼考,结果与以上文献报道一致。

3.2 葛根芩连汤对小鼠血常规指标的影响 白细胞分为粒细胞、单核细胞、淋巴细胞三大类,其中粒细胞又可分为中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞。当发生细菌性感染时白细胞会出现病理性升高,其中以单核细胞、淋巴细胞和中性粒细胞

的升高最为明显,活化的白细胞还能够分泌产生 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等促炎细胞因子,细胞因子的出现还能够继续趋化、激活白细胞。预防试验与治疗试验研究发现,葛根芩连汤组与模型组的各类白细胞数目均高于对照组,说明大肠杆菌感染小鼠后能够引起小鼠体内一系列免疫反应。段凯文^[7]等报道,黄连黄芩均能够增强巨噬细胞的吞噬功能。故本试验在攻毒 12 h 后检测血细胞变化,发现葛根芩连汤组各类白细胞数目均低于模型组,由此推测葛根芩连汤中的有效成分可通过增强白细胞吞噬能力,在加速白细胞吞噬过程中抑制促炎细胞因子的释放,使得该中药方剂产生的一系列保护作用进而减轻小鼠体内的炎症反应。

试验研究发现攻毒后的小鼠红细胞及血红蛋白含量均有所降低,但经葛根芩连汤治疗后,小鼠血液中红细胞各项水平均有明显提升。这可能是由于葛根芩连汤通过降低小鼠血液中的内毒素含量,进而提高血液中红细胞的水平。研究报道,脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 能够抑制红细胞生成,还能够激活凝血因子 VII,进而启动内源性凝血途径^[8,9]。同时,试验研究发现模型组小鼠在注射大肠杆菌后血小板明显减少,葛根芩连汤组的小血小板数目与对照组非常接近,可见葛根芩连汤对于因大肠杆菌感染引起的血小板减少症有明显的保护作用。模型组血小板减少可能与血小板过度消耗以及 LPS 侵入体内引起的弥散性血管内凝血有关^[10]。邱艳萍^[11]研究证明应用黄连素有抗血小板凝集的作用,并能够用于防治脑血管中发生血小板血栓。

3.3 葛根芩连汤对血液中内毒素含量的影响 大肠杆菌 K₈₈ 主要以菌毛、肠毒素和细菌崩解后产生的内毒素发挥致病作用,进而可导致机体发生腹泻^[12]。同时,革兰氏阴性菌细胞壁中的 LPS 在细菌死亡崩解时大量释放并且进入循环血液,造成内毒素血症^[13]。前期已通过预试验对攻毒小鼠体内介导炎症反应的受体表达量进行监测,发现攻毒后 12 h 小鼠体内炎症反应最强烈,预防试验与治疗试验中葛根芩连汤组与氟苯尼考组、模型组均检测出

一定浓度的内毒素,但是葛根芩连汤组在预防试验和治疗试验中其内毒素的含量均极显著低于模型组 ($P < 0.01$),与章常华^[14]等对于葛根芩连汤在代谢性疾病的治疗过程中能够显著降低小鼠血清中 LPS 的结论一致。同时,试验结果验证了葛根芩连汤通过降低小鼠血液中的内毒素含量,进而提高血液中红细胞和血小板的水平。

3.4 葛根芩连汤对 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 分泌影响 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 都属于炎症细胞因子, TNF- α 能够促进 IL-1 β 和 IL-6 的分泌,在发生炎症和细胞凋亡的过程中具有重要意义^[15]。试验研究发现葛根芩连汤组小鼠血清中三种因子的含量与对照组相比均有所降低,这与易文^[16]、马建强^[17]、赵月蓉^[18]等人对相关中药研究得出的中药能够抑制炎症介质的合成与释放结论相一致,而氟苯尼考组三种因子含量显示与对照组没有差异,由此可初步推测葛根芩连汤防治大肠杆菌病的免疫学机理。

3.5 结论 葛根芩连汤对感染大肠杆菌 K₈₈ 小鼠具有预防和治疗的作用。葛根芩连汤主要是通过降低血液中的内毒素及炎性因子的含量,进而降低机体炎症反应水平,发挥保护作用。

参考文献:

- [1] 刘哲. 仔猪腹泻大肠杆菌的毒力与耐药性分析 [D]. 长春: 吉林大学, 2017.
Liu Z. Virulence and resistance analysis of the *Escherichia coli* isolated from diarrhea piglets [D]. Changchun: Jilin University, 2017.
- [2] 王丽荣, 孙明杰, 陈静, 等. 嗜酸乳杆菌发酵中药对产肠毒素大肠杆菌 K88 所致腹泻的防治作用 [J]. 中国畜牧兽医, 2018, 45(3): 798-806.
Wang L R, Sun M J, Chen J, et al. Effect of *Lactobacillus acidophilus* fermented traditional Chinese medicine on diarrhea induced by enterotoxigenic *Escherichia coli* k88 [J]. Chinese Animal Husbandry and Veterinary, 2018, 45(3): 798-806.
- [3] 杨洪, 王东升, 董书伟, 等. 仔猪腹泻的病因及中药防治研究进展 [J]. 动物医学进展, 2016, 37(10): 89-93.
Yang H, Wang D S, Dong S W, et al. Progress on causes of diarrhea in piglets and the comprehensive prevention and treat-

- ment the use of TCM [J]. *Advances in Animal Medicine*, 2016, 37(10): 89-93.
- [4] 杨婧, 杨丽珍, 王亚贤, 等. 不同制备工艺葛根芩连汤抗炎抑菌作用比较 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(01): 224-226.
Yang J, Yang L Z, Wang Y X, *et al.* Comparative study on anti-inflammatory and antibacterial effects of different preparation technology of Gegen Qinlian Decoction [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Chinese Medicine*, 2013, 19(01): 224-226.
- [5] 郭莎莎. 综合护理配合葛根芩连汤证为感染性腹泻病治疗的论证研究 [J]. *大家健康(学术版)*, 2015, 17(02): 155.
Guo S S. Comprehensive nursing combined with Gegen Qinlian Decoction for the treatment of infectious diarrhea [J]. *Everyone Health (Academic Edition)*, 2015, 17(02): 155.
- [6] 王华龙. 加味葛根芩连汤治疗肠道湿热证急性感染性腹泻的疗效观察 [J]. *中国疗养医学*, 2017.
Wang H L. Therapeutic effect of Jiagenggenlianlian decoction on acute infectious diarrhea in intestinal damp-heat syndrome [J]. *Chinese Rehabilitation Medicine*, 2017.
- [7] 段凯文, 欧阳清芳, 陈秀琴, 等. 银黄止咳颗粒体外抑菌和抗炎作用的试验研究 [J]. *中国畜牧兽医*. 2014(06).
Duan K W, Ou Y Q F, Chen X Q, *et al.* Study on antibacterial activity *in vitro* and anti-inflammatory abilities of Yinhuang Zhike Granules [J]. *Chinese Animal Husbandry and Veterinary*. 2014(06).
- [8] Myung J, Park S J, Lim J, *et al.* Effects of lipopolysaccharide on changes in red blood cells in a mice endotoxemia model [J]. *Infection and Immunity*. 2016, Vol.63(NO.4): 305-312.
- [9] 饶本奎. 老年慢性支气管炎合并静脉血栓栓塞症病例分析 [J]. *中国社区医师(医学专业)*. 2012(17).
Rao B K. Analysis of elderly patients with chronic bronchitis complicated with venous thromboembolism [J]. *Chinese Community Physician (Medical)*. 2012(17).
- [10] 王莹, 赵自刚, 牛春雨. 内毒素休克微循环与血液流变性的变化 [J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(19): 4936-4939.
Wang Y, Zhao Z G, Niu C Y. Endotoxin shock microcirculation and changes in blood rheology [J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2016, 36(19): 4936-4939.
- [11] 邱艳萍. 黄连化学成分与药理作用研究进展 [J]. *中医临床研究*. 2018(22).
Qiu Y P. A review on Huanlian [J]. *Clinical Research of Traditional Chinese Medicine*. 2018(22).
- [12] 周虹, 朱军, 朱国强. 动物源产肠毒素大肠杆菌 (ETEC) 黏附素研究进展 [J]. *微生物学报*, 2012, 52(06): 679-686.
Zhou H, Zhu J, Zhu G Q. Advances in research on animal-derived enterotoxin *Escherichia coli* (ETEC) adhesives [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2012, 52(06): 679-686.
- [13] 侯甲福, 武蕾蕾, 才玉婷, 等. 锦花清热胶囊抗内毒素作用实验研究 [J]. *浙江大学学报(医学版)*. 2017(01).
Hou J F, Wu L L, Cai Y T, *et al.* Antiendotoxin effect of Jinhuaqingre capsules [J]. *Journal of Zhejiang University (Medical Science)*. 2017(01).
- [14] 章常华, 马广强, 邓永兵, 等. 葛根芩连汤对 KK-Ay 糖尿病小鼠血浆中 LPS、TNF- α 、IL-6 及肠道菌群的影响 2017(01) 中草药, 2017, 48(08): 1611-1616.
Zhang C H, Ma G Q, Deng Y B, *et al.* Effect of Gegen Qinlian Decoction on LPS, TNF- α , IL-6, and intestinal flora in diabetic KK-Ay mice 2017(01) *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2017, 48(08): 1611-1616.
- [15] Jiang M P, Xu C, Guo Y W, *et al.* β -arrestin 2 attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury via inhibition of TLR4/NF- κ B signaling pathway-mediated inflammation in mice. 2018, Vol.24, No.2, 216-225.
- [16] 易文, 陈置丰, 石孟琼, 等. 左金丸阻断溃疡性结肠炎小鼠 NF- κ B 激活 MIF、TNF- α 及 IL-1 β 、IL-6 表达 [J]. *中药药理与临床*, 2014, 30(06): 9-13.
Yi W, Chen Z F, Shi M Q, *et al.* Studies of Zuojinwan blocking NF- κ B activation on the expressions of MIF, TNF- α , IL-1 β and IL-6 in the ulcerative colitis mice [J]. *Chinese Pharmacology and Clinical Medicine*, 2014, 30(06): 9-13.
- [17] 马建强, 刘萍. 加味宣白承气汤配合西医综合疗法治疗急性呼吸道窘迫综合征疗效观察 [J]. *双足与保健*. 2018(09).
Ma J Q, Liu O. Observation on the curative effect of Jiawei Xuan Cheng Qi Decoction and western medicine in the treatment of acute respiratory distress syndrome [J]. *Bipedal and health care*. 2018(09).
- [18] 赵月蓉, 侯碧玉, 张莉, 等. 葛根素对实验性肝损伤的治疗作用研究进展 [J]. *中国新药杂志*. 2017(09).
Zhao Y R, Hou B Y, Zhang L, *et al.* Research progress of puerarin in the treatment of experimental liver injury [J]. *Chinese New Drug Journal*. 2017(09).

(编辑:陈希)