

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.12.007

纳米 Fe_3O_4 双歧杆菌脂磷壁酸对轮状病毒肠炎的疗效及对血清 IL-6、PCT、CRP 水平的影响^{*}

陈婉婵, 刘见欢, 梁逸仙, 崔业佳, 黄金时, 蒲 荣[△]

(东莞市第三人民医院检验科, 广东东莞 523326)

摘 要:目的 探讨纳米 Fe_3O_4 双歧杆菌脂磷壁酸对轮状病毒肠炎的疗效及对血清白细胞介素(IL)-6、降钙素原(PCT)、C 反应蛋白(CRP)水平的影响。方法 由动物实验室采购 40 只健康雄性 SD 大鼠, 将所有大鼠随机分为对照组与研究组, 每组 20 只, 并制成轮状病毒肠炎大鼠模型。对照组大鼠使用传统治疗方式, 研究组大鼠在对照组基础上加用纳米 Fe_3O_4 双歧杆菌脂磷壁酸。比较两组大鼠治疗后的临床效果、血清 IL-6、PCT、CRP 水平变化情况。结果 研究组大鼠治疗有效率高于对照组($P<0.05$); 治疗后, 两组大鼠的血清 IL-6、PCT、CRP 水平较治疗前均有所下降($P<0.05$), 且研究组大鼠的 3 种指标水平低于对照组($P<0.05$); 研究组大鼠止泻时间、退热时间均短于对照组($P<0.05$); 研究组大鼠治疗 5 d 后及 10 d 后的轮状病毒转阴率均高于对照组($P<0.05$)。结论 纳米 Fe_3O_4 双歧杆菌脂磷壁酸治疗轮状病毒肠炎疗效显著, 炎症反应较轻, 有降低血清 IL-6、PCT、CRP 水平的效果, 转阴率较高, 但应用于临床中是否有效, 仍需大量研究提供依据。

关键词: 纳米 Fe_3O_4 双歧杆菌脂磷壁酸; 轮状病毒肠炎; 治疗效果

中图法分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)12-1653-04

Effects of nano- Fe_3O_4 bifidobacterium lipoteichoic acid on rotavirus enteritis and serum IL-6, PCT and CRP levels^{*}

CHEN Wanchan, LIU Jianhuan, LIANG Yixian, CUI Yejia, HUANG Jinshi, PU Rong[△]

(Department of Clinical Laboratory, Dongguan Third People's Hospital, Dongguan, Guangdong 523326, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of nano- Fe_3O_4 bifidobacterium lipoteichoic acid on rotavirus enteritis and the levels of serum interleukin (IL)-6, procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP). **Methods** Forty healthy male Sprague-Dawley rats were purchased from animal laboratories. All rats were randomly divided into control group and study group, with 20 rats in each group, and made into a rat model of rotavirus enteritis. The rats in the control group were treated with traditional treatment. The rats in the study group were added with nano- Fe_3O_4 bifidobacterium lipoteichoic acid on the basis of the control group. The clinical effects and serum IL-6, PCT and CRP levels of the two groups were compared after treatment. **Results** The clinical efficacy of the study group was higher than that of the control group ($P<0.05$). After treatment, the serum levels of IL-6, PCT and CRP in the two groups were lower than those before treatment ($P<0.05$), and the indicators of study group were significantly lower than that in the control group ($P<0.05$). The antidiarrheal time and abatement of fever of the study group were significantly lower than that of the control group ($P<0.05$). The rates of negative conversion 5 days and 10 days after treatment in the study group were significantly higher than that of the control group ($P<0.05$). **Conclusion** Nano- Fe_3O_4 bifidobacterium lipoteichoic acid has a good effect in alleviating rotavirus enteritis, which has better effect and less inflammation. And serum IL-6, PCT and CRP levels are lower, but they are still needed to be further researched.

Key words: nano- Fe_3O_4 bifidobacterium lipoteichoic acid; rotavirus enteritis; therapeutic effect

轮状病毒肠炎比较多见于 6 个月以上 2 岁以下的婴幼儿, 且发病季节多集中在秋冬季, 所以轮状病毒肠炎又被称为秋季腹泻^[1]。临床中, 该病患儿症状多表现为发热、呕吐、腹泻等, 极易因腹泻而造成水电解质紊乱, 导致发生不同程度的脱水现象。严重时,

会对患儿的生命造成一定的威胁。以往临床中多使用较为传统的方法进行治疗, 如饮食指导、纠正电解质紊乱、纠正酸碱平衡紊乱、抗病毒、补液等, 但临床效果欠佳^[2]。感染轮状病毒后, 患儿的胃肠道易受到损伤, 引发胃肠炎, 并且可能会造成心肌损害, 引发病

^{*} 基金项目: 东莞市科技计划医疗卫生类科研一般项目 (2018507150241501); 东莞市社会科技发展(重点)项目 (2016108101021, 2018507150241638)。

作者简介: 陈婉婵, 女, 主管技师, 主要从事医学检验方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: purong328073@163.com。

毒性心肌炎,如果治疗不及时、治疗效果不佳,极易造成患儿出现心源性休克,严重时还会导致患儿死亡^[3]。近年来,微生态制剂在肠道菌群紊乱的治疗中有较好的效果,能够从根本上治疗轮状病毒肠炎。本研究对轮状病毒肠炎大鼠使用纳米四氧化三铁(Fe₃O₄)双歧杆菌脂磷壁酸进行治疗,探讨该药的临床疗效及对血清白细胞介素(IL)-6、降钙素原(PCT)、C 反应蛋白(CRP)水平的影响,为今后将其应用于临床治疗轮状病毒肠炎提供依据,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 由动物实验室采购 40 只健康雄性 SD 大鼠,体质量 120~140 g,所有大鼠均为清洁级。将 40 只大鼠随机分为对照组与研究组,每组 20 只。两组大鼠喂养 2 周后,给予轮状病毒灌胃,制作成轮状病毒肠炎大鼠模型。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 对照组大鼠采用传统治疗方式。通过纠正电解质紊乱、纠正酸碱平衡紊乱、抗病毒、补液等方式给予治疗,使用双歧杆菌四联活菌片喂养大鼠,剂量为 1 次/片,3 次/天^[4],喂养 2 周。研究组大鼠在对照组基础上加用纳米 Fe₃O₄ 双歧杆菌脂磷壁酸。纳米 Fe₃O₄ 双歧杆菌脂磷壁酸的制备:取双歧杆菌菌种 1 支,并在 BL 液体培养基中进行无菌接种,然后置入厌氧罐中,经抽、换气后,放入 37 ℃ 厌氧环境中培养 42 h^[5]。双歧杆菌脂磷壁酸通过使用 TritonX-114 后提取和纯化,纳米 Fe₃O₄ 双歧杆菌脂磷壁酸则根据 MOLDAY 专利方法制备^[6]。用法与剂量:对大鼠给予灌肠用药,每次 0.5 mL,1 次/天,灌肠 2 周。两组大鼠治疗过程中,密切监测并记录大鼠脱水、腹泻等情况,同时注意不良反应的出现。

1.2.2 各项指标的检测 于清晨采集大鼠静脉血定容至 1 mL,以 3 000 r/min 的速度离心 10 min,分离后取出血清,用于上机检测 PCT。抽取静脉血定容至 1 mL,采用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝上机检测 IL-6、CRP。采用 Roche E602 全自动电化学发光免疫分析仪检测 PCT 水平,试剂盒购自 Roche 有限公司。采用韩国艾可美生物科技有限公司研发的

特种蛋白分析仪,利用干式免疫荧光法检测 CRP 水平,试剂购自韩国艾可美生物科技有限公司。应用美国 BD FACSCalibur 流式细胞仪检测 IL-6 水平,试剂购自美国 BD 公司。轮状病毒检测试剂盒(胶体金法)、试剂购自北京万泰药业股份有限公司。

1.3 观察指标 (1)比较治疗后两组大鼠的临床效果。显效:大鼠经治疗 2 d 后,食欲显著增长,疾病特征或体征基本消失;有效:大鼠经治疗 5 d 后,食欲有所增长,疾病特征或体征显著好转;无效:大鼠治疗结束后,食欲不振,疾病特征或体征未有显著变化或有所加重。有效率=(显效例数+有效例数)/总例数×100%。(2)记录并比较两组大鼠治疗后的血清 IL-6、PCT、CRP 水平变化。(3)观察并比较两组大鼠疾病特征和体征的改善情况,包含止泻时间、退热时间等。(4)观察并比较两组大鼠治疗后的轮状病毒转阴情况。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件对数据进行分析。计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组大鼠治疗后临床效果比较 研究组大鼠治疗有效率为 95.0%(19/20),高于对照组的 80.0%(16/20),差异有统计学意义($\chi^2 = 4.996, P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组大鼠治疗后效果比较[n(%)]				
组别	<i>n</i>	显效	有效	无效
对照组	20	6(30.0)	10(50.0)	4(20.0)
研究组	20	14(70.0)	5(25.0)	1(5.0)

2.2 两组大鼠治疗前后血清 IL-6、PCT、CRP 水平比较 治疗后,两组大鼠的血清 IL-6、PCT、CRP 水平较治疗前均有所下降($P < 0.05$),且研究组大鼠血清 IL-6、PCT、CRP 水平低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 两组大鼠治疗前后血清 IL-6、PCT、CRP 水平比较($\bar{x} \pm s$)							
组别	<i>n</i>	IL-6(ng/L)		PCT(μ g/L)		CRP(mg/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	40	103.7±3.3	29.3±2.9	3.17±0.40	1.24±0.30	15.5±1.8	8.1±1.2
研究组	40	104.7±3.5	25.2±2.3	3.00±0.40	0.30±0.10	15.6±1.8	6.8±1.1
<i>t</i>		0.861	5.530	1.574	15.196	0.731	4.135
<i>P</i>		>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05

2.3 两组大鼠治疗后疾病特征及体征改善情况比较 治疗后,研究组大鼠的止泻时间、退热时间均短于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

2.4 两组大鼠治疗后轮状病毒转阴情况比较 研究组大鼠治疗 5 d 后及 10 d 后的轮状病毒转阴率均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

表 3 两组大鼠治疗后疾病特征及体征改善情况的比较(d, $\bar{x} \pm s$)			
组别	<i>n</i>	止泻时间	退热时间
对照组	20	2.5±0.6	2.5±0.8
研究组	20	1.7±0.4	1.6±0.5
<i>t</i>		11.649	12.047
<i>P</i>		<0.05	<0.05

表 4 两组大鼠轮状病毒转阴情况比较[n(%)]			
组别	<i>n</i>	5 d 后转阴	10 d 后转阴
对照组	20	11(55.0)	13(65.0)
研究组	20	17(85.0)	19(95.0)
χ^2		4.286	3.906
<i>P</i>		<0.05	<0.05

3 讨 论

双歧杆菌在大肠中可以维持人体或动物机体的肠道健康,属于肠道内的有益细菌,其重要性比乳酸杆菌更高^[7]。双歧杆菌的作用机制包含抗感染、预防癌变、抗肿瘤、治疗因抗菌药物引发的腹泻、抑制肠道内腐败细菌腐化、合成维生素、生物学屏障等^[8],其免疫增强作用存在于上述作用机制中。将该菌种及其表面结构制作成调节剂,宿主通过非肠道或口服途径可强化其免疫功能,能够促进抗体 IgA 与细胞因子生成,提升巨噬细胞或 NK 细胞的活性,以及提高宿主机体防御功能,发挥其抗肿瘤、抗感染、免疫调节等效应^[9]。

双歧杆菌四联活菌片是由蜡样芽孢杆菌、粪肠球菌、嗜酸乳杆菌和双歧杆菌共同合成的复方四联活菌制剂^[10]。给予大鼠双歧杆菌四联活菌片后,可补充大鼠肠道内的有益菌,在大鼠肠道内形成生物屏障,对肠道内的致病菌产生抑制繁殖的作用,降低毒素产生,将大鼠肠道内的菌群调整到平衡状态^[11];并且可以对大鼠机体免疫系统产生刺激,促使机体分泌大量细胞因子,激发大鼠自身免疫力,产生机体免疫屏障。另外,双歧杆菌四联活菌片也可以促使大鼠对营养物质的吸收、消化、利用,最终合成大鼠自身需要的微量元素和维生素,从而进一步对大鼠肠道功能进行调节^[12]。

脂磷壁酸为双歧杆菌表面主要的活性抗原物质,属于重要的免疫调节剂,TLR2 是主要受体,且脂磷壁酸有着多种生物学功效,如抗衰老、抗突变、抗肿瘤、免疫激活等^[13-14]。目前医学领域中纳米技术有着独特的作用,纳米技术的控释系统能够将药物缓慢释放,使药物在人体内的作用时间得到延长;同时具有靶向输送的作用,降低药物的不良反应和使用剂量,提高治疗的稳定性和效果^[15]。脂磷壁酸具有显著的抗炎作用和缓解症状的功能,据有关动物研究提示,纳米 Fe₃O₄ 双歧杆菌脂磷壁酸使用 1 周后,实验动物的进食量及活动量有所增长,精神状态逐渐恢复正

常,缓解 2 周后,实验动物体质量有明显增加,大便恢复正常,证实脂磷壁酸有着较好的抗菌活性,能够起到辅助治疗肠炎的作用^[16]。本研究结果显示,研究组大鼠临床疗效高于对照组(*P*<0.05),与报道结果相一致。

血清中的 IL-6 为多功能细胞因子,在人体中枢神经系统遭受损害后,仍可提升机体调节的能力。IL-6 源于胶质细胞,可以促使 B 细胞分化,对 B 细胞产生刺激,从而促进 IgA 的分泌,同时对机体内的补体成分产生刺激,间接提升 IgA 的分泌^[16]。PCT 属于非甾体类抗炎物质,其水平升高反映机体内炎性细胞因子和细胞毒素被激活,且具有对机体内部分细胞因子的调控作用^[17]。CRP 属于非抗体蛋白质,细菌内的多糖与 CRP 结合后,能够激活人体内的补体系统,发生应答反应^[18]。此外,监测 PCT 和 CRP 水平可用来区分细菌性感染或轮状病毒感染,也可判断是单纯轮状病毒感染或合并细菌感染^[19]。本研究显示,治疗后,两组大鼠的血清 IL-6、PCT、CRP 水平较治疗前均有所下降(*P*<0.05),且研究组治疗后血清 IL-6、PCT、CRP 水平低于对照组(*P*<0.05)。同时,本研究显示,研究组大鼠治疗后止泻时间、退热时间均短于对照组(*P*<0.05),研究组大鼠治疗 5 d 后及 10 d 后的轮状病毒转阴率均高于对照组(*P*<0.05),表明加用纳米 Fe₃O₄ 双歧杆菌脂磷壁酸进行治疗,其临床疗效更好,纳米 Fe₃O₄ 双歧杆菌脂磷壁酸的作用机制与血清细胞因子的表达有着密切关联。从研究结果中可以推断,纳米 Fe₃O₄ 双歧杆菌脂磷壁酸对炎性因子有着抑制的作用,减少炎性因子在大鼠肠道内浸润、活化、聚集^[20]。

综上所述,纳米 Fe₃O₄ 双歧杆菌脂磷壁酸治疗轮状病毒肠炎疗效显著,可减轻炎性反应,降低血清炎性因子水平,转阴率较高,但应于临床中是否有效,仍需大量研究提供依据。

参考文献

[1] 戴韵峰,徐景利,陈佳珊,等. 中西医结合治疗小儿轮状病毒性肠炎疗效及安全性的 Meta 分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,27(4):182-188.

[2] 江超雄,许春娣,杨长青. 锌制剂辅助治疗婴幼儿轮状病毒性肠炎的疗效观察[J]. 中国当代儿科杂志,2016,18(9):826-830.

[3] 李豪,杨永志,武庆斌,等. 双歧杆菌三联活菌制剂治疗婴幼儿轮状病毒肠炎临床疗效 Meta 分析[J]. 中国实用儿科杂志,2016,49(7):537-541.

[4] SUN Y, YANG C, LI J, et al. Construction of a recombinant duck enteritis virus vaccine expressing hemagglutinin of H9N2 avian influenza virus and evaluation of its efficacy in ducks[J]. Arch Virol, 2017, 162(1):171-179.

[5] 陈阵,潜丽俊,刘晟,等. 轮状病毒肠炎患儿乳糖不耐受与肠炎转归的关系及其影响康复的相关因素分析[J]. 中华医院感染学杂志,2017,27(11):2618-2621.

[6] 张翊,黄向红,张琦. 秋泻方治疗小儿轮(下转第 1658 页)

较低^[17-18]。

综上所述,阴道顶端脱垂患者采用阴式子宫切除术结合骶棘韧带固定术方案治疗,不仅能够增加治疗的总有效率,还可以改善患者生活质量,效果显著,值得推广。

参考文献

[1] 龙燕,王建凤. 40 例重度盆底脏器脱垂患者盆底重建术治疗效果观察[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(3): 475-476.

[2] 胡令辉. 阴道修补联合补片治疗女性盆底脏器脱垂的临床疗效观察[J]. 中外医疗, 2012, 31(20): 77.

[3] 居锦芬,李炜虹,谢静燕,等. 盆底悬吊术在盆底功能障碍中的应用及技术探讨[J]. 实用临床医药杂志, 2015, 19(5): 78-80.

[4] 古丽娜·阿巴拜克力,古丽娜·阿巴拜克力,阿依帕丽·艾克木江. 全盆底悬吊术治疗盆腔脏器脱垂的术后并发症研究进展[J/CD]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2016, 12(1): 83-87.

[5] 何陈云,邵佳,何爱琴. 宫颈阴道腹壁筋膜悬吊术治疗盆腔脏器脱垂 12 例临床分析[J]. 实用临床医药杂志, 2013, 17(19): 159-160.

[6] 郭红霞,蔡冰. 盆腔脏器脱垂手术临床疗效探究[J]. 中外医学研究, 2016, 14(8): 1-3.

[7] 牛秀敏,臧春逸. 不同术式治疗重度盆腔脏器脱垂的临床疗效分析[J/CD]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2013, 9(1): 75-80.

[8] 章波儿. 保留子宫全盆底悬吊术治疗盆腔脏器脱垂的临床应用[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(3): 478-479.

[9] 陆静,周德兰,韩素萍. 阴道顶端悬吊术治疗盆腔脏器脱垂疗效分析[J]. 江苏医药, 2015, 41(22): 2746-2747.

[10] 曾庆松,易村健,陈克明,等. 经阴道修补手术与经腹骶骨阴道固定术治疗阴道顶端脱垂的 meta 分析[J]. 中国生育健康杂志, 2018, 29(2): 117-125.

[11] 张丽丽,兰振和,王宇晗,等. 腹腔镜下宫颈悬吊术治疗盆底功能障碍性疾病的临床探讨[J]. 医药与保健, 2013, 2(11): 4-5.

[12] 黄金玲,丁锦丽,王晓航,等. TLR4 和 Nrf2 与子宫脱垂发生的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(22): 5570-5572.

[13] 崔丹,杨春雨. 中性粒细胞弹性蛋白酶在子宫脱垂患者血清和阴道前壁中的表达[J]. 广东医学, 2012, 33(3): 356-358.

[14] 蓝洁珍,王海红. 阴式全子宫切除同时行骶棘韧带悬吊术防治阴道顶端脱垂 45 例临床研究[J]. 中外医学研究, 2018, 16(16): 14-16.

[15] 黄柳,唐家龄. 子宫脱垂和压力性尿失禁的临床分析[J]. 中国妇幼保健, 2006, 21(19): 2658-2659.

[16] 韦素娟. 老年子宫脱垂阴式全宫切除术后并发症的中西医结合护理[J]. 北京医学, 2014, 12(7): 4457-4457.

[17] 王霞. 阴式切除手术治疗子宫脱垂的临床体会[J]. 中外女性健康研究, 2016, 12(9): 39-40.

[18] 姚路. 阴式子宫切除同时行骶棘韧带固定术防治阴道顶端脱垂临床研究[J]. 浙江创伤外科, 2018, 23(3): 584-585.

(收稿日期:2018-12-30 修回日期:2019-02-27)

(上接第 1655 页)

状病毒肠炎的疗效及对细胞因子的影响[J]. 广东医学, 2017, 38(5): 793-796.

[7] 龙彪,曾冬梅,罗莉. 热毒宁注射液辅助治疗小儿轮状病毒肠炎及对血清炎症因子水平的影响[J]. 中药材, 2017, 34(7): 1738-1740.

[8] 余丹,陈建平,何念海. 3 种益生菌治疗小儿轮状病毒性肠炎的成本-效果分析[J]. 重庆医学, 2017, 46(27): 3835-3837.

[9] YIN H C, ZHAO L L, LI S Q, et al. Autophagy activated by duck enteritis virus infection positively affects its replication[J]. J Gen Virol, 2017, 98(3): 486-495.

[10] 杨秀娟,祁波. 中医药治疗婴幼儿轮状病毒肠炎的 Meta 分析及用药规律总结[J]. 中华中医药学刊, 2016, 20(6): 1492-1496.

[11] 王伟荣,李玲,唐碧波,等. 口服锌制剂对轮状病毒感染所致肠炎患儿病情复发的影响[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 43(17): 4020-4023.

[12] MUHSEN K, KASSEM E, RUBENSTEIN U, et al. Incidence of rotavirus gastroenteritis hospitalizations and genotypes, before and five years after introducing Universal immunization in Israel[J]. Vaccine, 2016, 34(48): 5916-5922.

[13] 商亚敏,李英,王文英,等. 赛若金联合无乳糖饮食对小儿轮状病毒感染性肠炎肠黏膜损伤及心肌酶谱的影响[J].

中华医院感染学杂志, 2017, 27(18): 4224-4227.

[14] 王伟,王晓妍,曹志群,等. 五加减正气散治疗寒湿型轮状病毒性肠炎的临床观察[J]. 中华中医药杂志, 2018, 24(1): 383-385.

[15] 邵琨,张斌,陈明迪,等. 血清 IL-6、PCT、CRP 联合检测对脓毒症患者病情及预后的预测价值[J]. 山东医药, 2016, 56(24): 89-91.

[16] 王晓阳,胡艳东,谢爱敏,等. 细菌感染性患儿血清炎症因子变化与病情严重程度相关性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(17): 4067-4069.

[17] 史江峰,马健. 血清降钙素原对不同致病菌感染所致脓毒症的早期诊断及临床研究[J]. 重庆医学, 2017, 46(12): 1626-1628.

[18] SATTER S M, GASTANADUY P A, ISLAM K, et al. Hospital-based Surveillance for Rotavirus Gastroenteritis Among Young Children in Bangladesh Defining the Potential Impact of a Rotavirus Vaccine Program[J]. Pediatr Infect Dis J, 2017, 36(2): 168-172.

[19] 邹秀丽,吴铁军,崔玉静,等. 降钙素原与不同菌种血流感染致脓毒症早期诊断价值的探讨[J]. 中华急诊医学杂志, 2017, 26(3): 297-301.

[20] 孙明华. 不同感染状态下的儿童 PCT 及 hs-CRP 的临床研究[J]. 中国地方病防治杂志, 2016, 39(7): 833-835.

(收稿日期:2018-12-30 修回日期:2019-02-22)