

• 临床检验研究论著 •

鸡枞多糖对急性感染小鼠的 WBC、C₃、CRP 和 IgM 变化研究*冯 宁¹, 吴海婴¹, 左方财¹, 陈光明¹, 吴世木¹, 张元礼²

(1. 贵州省兴义市人民医院检验医学科 562400; 2. 贵州省黔西南州人民医院药剂科 562400)

摘要:目的 探讨鸡枞多糖对急性感染性小鼠的白细胞(WBC)、补体(C₃)、C 反应蛋白(CRP)和免疫球蛋白(IgM)水平变化。方法 取一定浓度的大肠埃希菌(0.3 麦氏单位)对分组小鼠腹腔进行接种,1 d 后以庆大霉素(最小抑菌浓度)和庆大霉素+鸡枞多糖进行腹腔注射治疗,3 d 后及 7 d 后对分组小鼠进行眼球取血,检测其 WBC、CRP、C₃、IgM 水平变化。结果 庆大霉素组与庆大霉素+鸡枞多糖组比较,WBC、C₃、CRP、IGM 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 鸡枞多糖能使机体免疫反应处于一个相对较低的稳定状态,可避免因过度剧烈的免疫反应而导致免疫损伤。

关键词:鸡枞多糖; 小鼠; 白细胞; 补体 C₃

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.08.003

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)08-0902-02

Effect of collybia albuminosa polysacchorrides on WBC, WBC, C₃, CRP and IgM in acute infection mice model*Feng Ning¹, Wu Haiying¹, Zuo Fangcai¹, Chen Guangming¹, Wu Shimu¹, Zhang Yuanli²

(1. Department of Laboratory, the People's Hospital of Xingyi City, Xingyi Guizhou 562400, China; 2. Department of Pharmacy, the People's Hospital of South West Prefecture of Guizhou Province, Xingyi Guizhou 562400, China)

Abstract: Objective To evaluate the effect of collybia albuminosa polysacchorrides on white blood cell counts(WBC), complement C₃(C₃), C reaction protein(CRP) and immunoglobulin M(IgM) in mice model of acute infection. **Methods** Escherichia coli (E. coli) of 0.3 McFarland Standard Unit were intraperitoneally inoculated into divided groups. Single Gentamicin, with concentration of minimum inhibitory concentration, or Gentamicin+polysaccharides were intraperitoneally injected 1 day after for therapy. 3 and 7 days after inoculation, blood from eyeball of different groups of mice were collected and, and detected for WBC, C₃, CRP and IgM. **Results** The single Gentamicin group was significant statistical difference from the single Gentamicin+polysaccharides group with the WBC, C₃, CRP and IgM($P < 0.05$). **Conclusion** Collybia albuminosa polysaccharides could cause low stable immunoreaction at relatively low degree and avoid immunologic injury caused by vigorous immunoreaction.

Key words: Termitomyces albuminosus polysaccharides; imice; leukocytes; complement C₃

鸡枞菌[Termitomyces. robustus(Belli) Heim],属担子菌纲,伞菌目,口蘑科,蚁巢伞属。营养丰富,肉质鲜美,富含人体所需的氨基酸、蛋白质及铁、磷、铝、钙等矿物质元素及维生素。《本草纲目》中认为其性平味甘,益胃且有清神、治痔等功效。曾有学者研究表明鸡枞菌对降低血脂有一定的作用^[1-2]。现通过鸡枞多糖与庆大霉素联合作用,对急性感染性小鼠体内白细胞(WBC)、C 反应蛋白(CRP)、补体(C₃)、免疫球蛋白(IgM)等指标变化进行研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 鸡枞多糖溶液制备 参照谭晓虹和方秀梅^[3]鸡枞多糖的提取方式,经超市购得昆明裕泰兴公司生产的鸡枞子实体干品,干燥研碎后,取一定量加入蒸馏水在 90~100 ℃加热,回流 8 h,离心,取上清液加热浓缩后,加入 95%的乙醇使其醇含量为 75%,4 ℃过夜沉淀,离心获取多糖沉淀,再用无水乙醇进一步脱水,70 ℃烘干,得到水提鸡枞多糖干品。准确称取 10 mg 干品,溶于 200 mL 生理盐水中,配制成 5%多糖干品溶液,消毒灭菌备用。

1.1.2 大肠埃希菌液 经德灵微生物仪鉴定以及手工生化鉴定后的 大肠埃希菌,按要求配制成不同浓度(0.1、0.2、0.3、0.4、0.5)麦氏单位菌液^[4]。

1.1.3 庆大霉素使用浓度的建立 庆大霉素由贵州光正制药

厂提供,规格:2 mL,8 万单位;批准文号:国药准字 H52020805。经培养鉴定后的 大肠埃希菌,采用体外药敏试验中定量测定稀释法(dilution test)确定庆大霉素的最小抑菌浓度。

1.1.4 急性感染小鼠实验的建立 采用昆明种小鼠,雌雄随机,体质量 18~25 g,6~8 周龄,由贵阳医学院动物实验室提供。随机抽取 20 支小鼠眼球,抗凝取血后 WBC 计数作为正常对照,把不同浓度(0.1、0.2、0.3、0.4、0.5)麦氏单位菌液的大肠埃希菌液分别给予其他小鼠分组后(每组 20 只),行腹腔注射,次日眼球取血作 WBC 计数,结果与正常对照组有显著差异者定为急性感染的菌液浓度。实验表明,0.3 麦氏单位的菌液时对小鼠较为适合,菌液浓度过低则无明显差异,过高易造成小鼠感染过重导致死亡。

1.2 方法

1.2.1 小鼠分组 随机分取正常对照组小鼠,采用庆大霉素治疗 3、7 d,庆大霉素+鸡枞多糖治疗 3、7 d 共 5 组,试验组和正常对照组均正常饮食及饮水。

1.2.2 取制定的菌液对各试验组小鼠进行腹腔接种 24 h 时用最小抑菌浓度庆大霉素和庆大霉素+鸡枞多糖菌液对小鼠进行治疗。3 及 7 d 后眼细胞取血,在 Sysmex KX-21 血球计数仪及日立 7180 全自动生化分析仪上检测其 WBC、CRP、C₃、IgM。检测试剂由迈克科技有限公司提供,批号:

* 基金项目:贵州省黔西南州重点科研项目(编号 2006-47)。

0508111。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计学软件,数据以($\bar{x} \pm s$)表示。

2 结 果

各组小鼠的指标检测结果见表 1。

表 1 正常对照组小鼠和各试验组小鼠指标检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数(<i>n</i>)	WBC($\times 10^9$ /L)	CRP	C ₃	IgM
正常对照组	20	6.02±0.35	0.17±0.07	0.20±0.04	0.09±0.03
庆大霉素治疗 3 d 组	20	13.06±1.03*	1.76±0.30*	0.71±0.13*	0.51±0.05*
庆大霉素治疗 7 d 组	20	6.85±0.71*	0.94±0.19*	0.27±0.06	0.15±0.04*
庆大霉素+鸡枞多糖治疗 3 d 组	20	10.24±1.56*△	0.98±0.17*△	0.49±0.08*△	0.37±0.05*△
庆大霉素+鸡枞多糖治疗 7 d 组	20	5.64±0.71	0.30±0.15△△	0.15±0.04△△	0.13±0.03

*: $P<0.05$,与正常对照组比较;△: $P<0.05$,与庆大霉素治疗 3 d 组和庆大霉素+鸡枞多糖治疗 3 d 组比较;△△: $P<0.05$,与庆大霉素治疗 7 d 组和庆大霉素+鸡枞多糖治疗 7 d 组比较。

3 讨 论

病原微生物是否对机体造成感染和是否致病,取决于病原体致病力强弱与侵袭宿主机体的数量、侵袭力、毒力及其逃避或抵抗宿主攻击力有关^[5]。WBC、CRP、C₃、IgM 均可作为细菌感染的指标。CRP 是肝脏合成的一种急性时相反应蛋白,在炎性反应后 6~8 h 血清 CRP 即可明显上升,故可作为细菌感染的早期诊断指标^[6-9]。IgM 是初次体液免疫应答中最早出现的抗体,血清中如检测出 IgM,提示新近发生感染,可用于感染的早期诊断。

本研究中正常对照组与各试验组各项指标均有不同程度差异,说明经过细菌的接种后,都发生了不同的免疫反应。机体在受感染时,各种免疫细胞、免疫因子都参与反应,使机体处于一种稳定状态。C₃ 是存在于血液中的一组不稳定球蛋白,能结合于抗原-抗体复合物,通过免疫吸附促炎性和中和溶解病毒等作用,其可通过黏附在病原体表面利于宿主细胞吞噬,形成膜攻击复合体导致病原体溶解、释放过敏素而引起炎性反应等多条途径来清除病原体^[10]。同时也可以介导炎性反应,导致组织损伤^[11-12]。机体炎性反应有正、反作用,炎性反应的目的是清除异己和坏死细胞,但是过度的炎性反应会导致机体各组织的损伤。多糖具有多种生理功能,维持机体的免疫稳态作用。在有鸡枞多糖与庆大霉素参与的反应中,与单纯的庆大霉素比较,各项指标均低于单纯的庆大霉素治疗,说明加入鸡枞多糖时,小鼠机体处于一个相对较低的免疫反应状态,从而避免过高、过强的免疫反应,造成机体免疫反应损伤。

(志谢:贵阳医学院解剖教研室王继芬老师为本组试验提供技术指导。)

参考文献

[1] 王一心,杨桂芝,狄勇.鸡枞菌降血脂作用的实验研究[J].中华临

床医学研究杂志,2003,11(80):13185-13186.
[2] 王一心,狄勇,杨桂芝.鸡枞菌在大鼠高胆固醇血症中的抗氧化作用[J].中国预防医学杂志,2005,6(1):10-12.
[3] 谭晓虹,方秀梅.云南产鸡枞菌多糖含量测定[J].张家口医学院学报,2004,21(1):2-3.
[4] 赵晓丽,胡大春.大肠埃希菌耐药机制的研究进展[J].国际检验医学杂志,2007,28(5):438-441.
[5] 金惠铭,王建枝.病理生理学[M].6 版.北京:人民卫生出版社,2006:6-7.
[6] Steel DM,Whitehead AS. The major acudte phase reactants:C-reactive protein,serum amyloid Pcomponent and serum yloid A protein[J]. Immunol Today,1994,15(7):81-88.
[7] 王燕.C 反应蛋白的临床应用进展[J].国际检验医学杂志,2008,29(6):530-532.
[8] 沈小明,张佩芸,华伊农.C 反应蛋白的临床应用的价值[J].中华医学研究杂志,2005,5(8):803-804.
[9] 王辉,李勤,龚志伟,等.超敏 C 反应蛋白与白细胞计数在炎症感染中的意义[J].中国实验诊断学,2009,9(9):1277-1278.
[10] Atkinson C,Zhu H,Qiao F,et al. Complement-dependent Pselectin expression and injury following ischemic storke[J]. Immunology,2006,177(10):7266-7274.
[11] Tabakman R,Lecht S,Sephanova S,et al. Interractions between the cells of the immune and nervous system; heurotrophins as neuroprotection mediators in CNS injury[J]. Prog Brain Res, 2004,146(23):387-401.
[12] Van Beek J,Elward K,Gasque P. Activation of complement in the central hervous system;roles in neurodegeneration and neuroprotection[J]. Ann NY Acad Sci,2003,992(46):56-71.

(收稿日期:2011-12-02)

(上接第 901 页)

[10] 林珍,王栩,任世奇,等.化学发光酶免疫法测定游离三碘甲腺原氨酸[J].分析化学研究报告,2008,16(5):609-613.
[11] Deen C,Claassen E,Gerritse K,et al. A novel carbodiimide coupling method for synthetic peptides enhanced anti- peptide antibody responses[J]. J Immunol Methods,1990,129(51):64-71.
[12] 蔡文琴,王伯云.实用免疫细胞化学与核酸分子杂交技术[M].成都:四川科技出版社,1994:45-60.

[13] 董雪,钟青萍,黄安诚,等.河豚毒素直接竞争 ELISA 检测方法的研究[J].现代食品科技,2009,25(11):977-981.
[14] 秦晓光.“检查结果互认”和质量管理[J].中华检验医学杂志,2007,30(16):132-135.
[15] 李金明,申子瑜.正确认识临床实验室认可与提高检验质量之间的关系[J].中华检验医学杂志,2007,30(19):136-139.

(收稿日期:2012-01-21)