

超微七味白术散与酵母菌协同治疗小鼠菌群失调腹泻*

郭抗萧^{1,2} 谭周进^{1**} 谢梦洲¹ 余 颜¹ 王学红^{3**}

¹湖南中医药大学 长沙 410208

²长沙卫生职业学院 长沙 410100

³中南大学湘雅二医院消化内科 长沙 410011

摘 要 探讨超微七味白术散与酵母菌联用对菌群失调腹泻的疗效,可为超微七味白术散与酵母菌配伍制剂的研发提供依据。采用抗生素建立小鼠菌群失调腹泻模型,灌胃给药七味白术散50%量超微汤药、50%量超微汤药+12.5%量酵母、25%量超微汤药+25%量酵母、12.5%量超微汤药+50%量酵母及全量酵母,比较分析小鼠体重变化率、免疫器官指数、肠道菌群数及酶活。结果表明,超微七味白术散和酵母菌对小鼠体重和脾脏无显著影响,各治疗组的胸腺指数为正常水平($P > 0.05$);超微七味白术散和酵母菌均能促进双歧杆菌和乳酸菌的生长($P < 0.01$),调节微生态平衡;50%量超微汤药组和25%量超微汤药+25%量酵母组的大肠杆菌、细菌数恢复至正常水平($P > 0.05$)。治疗后肠道内纤维素酶活性均恢复至正常组(对照)水平($P > 0.05$);50%量超微汤药+12.5%量酵母组和25%量超微汤药+25%酵母量组的淀粉酶活性恢复至正常水平($P > 0.05$);木聚糖酶、蛋白酶活性与超微饮片的浓度及酵母菌的量有一定的关系,但均未达到正常组水平($P < 0.05$)。说明七味白术散25%量超微汤药+25%量酵母配伍能够有效治疗菌群失调小鼠腹泻,其效果与超微七味白术散50%量相当,达到全量传统汤剂的效果。图2 表3 参35

关键词 超微七味白术散;酵母菌;菌群失调;肠道微生物;肠道酶

CLC R285.5

The synergic effect of ultra-micro powder Qiweibaizhusan combined with yeast on dysbacteriotic diarrhea mice*

GUO Kangxiao^{1,2}, TAN Zhoujin^{1**}, XIE Mengzhou¹, SHE Yan¹ & WANG Xuehong^{3**}

¹Hunan University of TCM, Changsha 410208, China

²Changsha Health Vocational College, Changsha 410100, China

³Department of Gastroenterology, Xiangya Second Hospital, Central South University, Changsha 410011, China

Abstract This research aimed to provide scientific basis for preparation development of ultra-micro powder Qiweibaizhusan combined with yeast by exploring its clinic effect on dysbacteriotic diarrhea. First, dysbacteriotic diarrheal mice model was constructed via administration of antibiotics. The modeled mice were treated with 50% amount of ultra-micro Qiweibaizhusan, 50% amount of ultra-micro Qiweibaizhusan + 12.5% amount of yeast, 25% amount of ultra-micro Qiweibaizhusan + 25% amount of yeast, 12.5% amount of ultra-micro Qiweibaizhusan + 50% amount of yeast, and yeast alone, respectively. The body weight, spleen weight, thymus weight, intestinal microbiota and enzyme activities were analyzed. The results showed that the body weight and spleen weight of mice was not influenced by Qiweibaizhusan and yeast. Weight of thymus was promoted by Qiweibaizhusan and yeast ($P > 0.05$). Ultra-micro Qiweibaizhusan and yeast could regulate the microecological balance by promoting the growth of Bifidobacterium and Lactobacillus ($P < 0.01$). The *Escherichia coli* and total bacteria amount of the 50% amount ultra-micro Qiweibaizhusan group and the 25% amount ultra-micro decoction + 25% yeast group recovered to the normal level ($P > 0.05$). After treatment, the intestinal cellulase enzyme activity recovered to the normal group level ($P > 0.05$). The amylase activity of the 50% amount ultra-micro Qiweibaizhusan + 12.5% yeast group and the 25% amount ultra-micro Qiweibaizhusan + 25% yeast group recovered to the normal ($P > 0.05$). The activity of xylanase and protease had a certain relationship with the concentration of ultra-micro Qiweibaizhusane and yeast, but did not recover to the normal level ($P < 0.05$). Among all ratios, 25% amount ultra-micro Qiweibaizhusan + 25% yeast had the best compatibility and the same effect on

收稿日期 Received: 2013-10-09 接受日期 Accepted: 2013-12-16

*国家自然科学基金项目(81173214)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (81173214)

**通讯作者 Corresponding authors (E-mail: tanzhjin@sohu.com; xh05271@aliyun.com)

dysbacteriosis diarrhea with 50% amount ultra-micro Qiweibaizhusan and 100% amount traditional Qiweibaizhusan.

Keywords ultra-micro powder Qiweibaizhusan; yeast; dysbacteriotic; intestinal microorganisms; intestinal enzyme

七味白术散出自钱乙《小儿药证直诀》。临床实践及现代药理研究证明,七味白术散对小儿迁延性腹泻^[1]、霉菌性肠炎^[2]、溃疡性结肠炎^[3]、脾虚湿盛型腹泻^[4]等多种肠道疾病有很好的治疗效果。李春颖进行了七味白术散加味治疗抗生素相关腹泻的研究,证明七味白术散加味对抗生素相关性腹泻有显著治疗作用^[5],谭周进等证实了超微七味白术散50%剂量即可达到传统饮片全量的疗效,且超微七味白术散能促进肠道酵母菌的增殖^[6]。

微生态调节活菌制剂是通过口服活菌,使菌在肠道内定居、繁殖,以促进和维持肠道内微生态平衡,调整生理平衡,发挥生物拮抗作用,对肠道内病原菌直接产生影响或通过肠道微生态结构或免疫系统的调整间接产生影响,从而可排除致病菌和条件致病菌侵袭。目前,乳杆菌属、双歧杆菌属、芽孢菌类和酵母菌属的多个菌株已作为微生态调节剂应用于临床,治疗各类肠炎^[7]。酵母菌能够产生大量的B族维生素和氨基酸,既可帮助消化,促进营养物质的吸收,刺激有益菌的生长,又可为动物提供蛋白质^[8]。酵母菌能直接参与生物屏障的构成,发挥对致病菌和条件致病菌的拮抗作用,促进优势种群生长,调整微生态平衡^[9]。肠道酵母菌还可通过其代谢产物来进行肠道内的微生态调节,从而增强机体的免疫力和抗病力^[10-11]。

中药与微生态制剂联用已成为当今的一个主要研究领域^[12],中药可以通过直接促进正常菌群的生长和增强机体免疫功能来实现其扶正祛邪的目的^[13-14],而微生态菌剂是通过补充有益菌而直接维持菌群平衡,两者作用相同,殊途同归^[15-16]。崔法新利用白头翁加甘草阿胶汤与微生态制剂金双歧联用治疗对抗生素无效小儿细菌性痢疾取得了较好的效果^[17],有研究表明中药与微生态制剂(含枯草芽孢杆菌、乳酸菌及酵母细胞壁提取物)联用能显著提高肉鸡血清中的超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)的活性,降低血清中丙二醛(Malondialdehyde, MDA)的含量,明显提高机体的抗氧化能力^[18]。我们对超微七味白术散与酵母菌联合治疗菌群失调腹泻小鼠的效果进行了研究,以期超微七味白术散与酵母菌配伍制剂的研发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SPF级昆明小鼠60只,体质量 $20\text{ g} \pm 2\text{ g}$,雌雄各半,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供。

1.1.2 药物 超微七味白术散:人参(吉林)6 g、木香(云南)6 g、白茯苓(云南)10 g、炒白术(浙江)10 g、藿香叶(广西)10 g、葛根(湖南)10 g、甘草(内蒙古)3 g,以上药物均由湖南中医药大学第一附属医院提供。将单位中药超微粉碎后,按上述配比加入适量开水,搅拌均匀,冷却后低速离心取上清液,分别制成50%量、25%量、12.5%量超微汤药,4℃冰箱中保存备用,临用前复温至25-30℃。

酵母菌:取课题组从实验动物肠道内容物中分离鉴定的汉逊德巴利酵母菌(*Debaryomyces hansenii*) (具体生物学特性另文报道),七味白术散对该酵母菌的生长具有明显的促进作用^[9],将其进行活化,接种到马铃薯蔗糖液体培养基,28℃左右,摇床振荡培养36 h后,离心弃上清液,沉淀重复洗涤1-2次。加入一定量的生理盐水,轻敲离心管将酵母菌分散后,经血球计数板进行计数后,将菌数稀释为 10^{10} 个/mL,即为全量酵母^[20],将全量酵母稀释至50%量酵母(0.5×10^{10} 个/mL)、25%量酵母(0.25×10^{10} 个/mL)和12.5%量酵母(0.125×10^{10} 个/mL),4℃冰箱内保存备用。

1.1.3 试剂 硫酸庆大霉素(批号:5120106)、头孢拉定(批号:110804)。将头孢拉定胶囊和硫酸庆大霉素注射液用无菌生理盐水配成浓度为62.5 g/L的抗生素混合液^[21](即6支庆大霉素+3粒头孢配制混合液),4℃冰箱中保存备用。

1.1.4 培养基 参考文献[22]。牛肉膏蛋白胨琼脂培养基:用于测定细菌总数;马丁孟加拉红链霉素琼脂培养基:用于真菌计数;伊红美蓝琼脂培养基(EMB):用于大肠杆菌的计数;乳酸细菌琼脂培养基(MRS):用于乳酸菌计数;双歧杆菌选择性琼脂培养基(BBL):用于双歧杆菌数量的分析。

1.1.5 饲料及屏蔽环境实验设施 由湖南中医药大学动物实验中心提供。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 小鼠适应性饲养4 d后随机分成7组,即正常组(对照)、模型组、50%量超微七味白术散组、50%量超微七味白术散+12.5%量酵母组、25%量超微七味白术散+25%量酵母组、12.5%量超微七味白术散+50%量酵母组、全量酵母组。每组6只,雌雄各半,分笼饲养。

1.2.2 造模方法 参照文献[21]的造模方法,正常组给予无菌生理盐水0.35 mL/(只·次)灌胃,其余各组采用抗生素混合液0.35 mL/(只·次)灌胃。每天2次,连续5 d,粪便变得“稀湿”即造模成功。

1.2.3 给药方法及剂量 造模成功后,灌胃给药,每天2次,连续治疗3 d。正常组及模型组给予无菌生理盐水,其余各组按临床用药剂量等效给药^[23],即50%量超微七味白术散组: $0.08\text{ g kg}^{-1}\text{ d}^{-1}$;50%量超微七味白术散组+12.5%量酵母组: $0.08\text{ g 超微七味白术散}+0.125 \times 10^{10}\text{ 个酵母}/(\text{kg}\cdot\text{d})$;25%量超微七味白术散组+25%量酵母组: $0.04\text{ g 超微七味白术散}+0.25 \times 10^{10}\text{ 个酵母}/(\text{kg}\cdot\text{d})$;12.5%量超微七味白术散组+50%量酵母组: $0.02\text{ g 超微七味白术散}+0.5 \times 10^{10}\text{ 个酵母}/(\text{kg}\cdot\text{d})$;全量酵母组: $10^{10}\text{ 个酵母}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 。

1.2.4 实验动物一般状态观察 造模成功后及治疗结束后分别称取小鼠体重,观察实验动物的饮食状况、精神状况、粪便稀湿度及死亡情况等,并计算体重变化率,计算公式^[24]如下:治疗后体重变化率=(最终体重-造模后体重)/造模后体重 $\times 100\%$ 。

1.2.5 小鼠免疫器官的变化 治疗结束后,小鼠称重,分别称取脾脏、胸腺的重量,并计算相应的脏器指数,计算公式^[23]如下:

脾脏指数=脾重量(g)/小鼠体重(g)×100%

胸腺指数=胸腺重量(g)/小鼠体重(g)×100%

1.2.6 小鼠肠道内容物的提取 将处死的小鼠立即放于超净工作台上, 无菌采集各组空肠到回肠段的肠道内容物, 收集同组小鼠肠道内容物通过无菌操作进行混匀, 备用。

1.2.7 肠道微生物数量的测定 参考文献[24]。无菌操作称取一定量的肠道内容物放入装有玻璃珠的无菌水瓶中, 摇床120 r/min振摇30 min使微生物充分分散, 选择合适的稀释度, 采用混菌法计数法, 好氧细菌、大肠菌群在37℃培养箱中培养24 h后进行菌落计数, 真菌在30℃培养箱中培养48 h后计数, 乳酸菌、双歧杆菌在37℃厌氧培养箱中培养48 h后计数, 每一个稀释度做3次重复, 求出平均值并计算每克肠道内容物所含的菌数。

1.2.8 小鼠肠道酶活性的分析 参考文献[25]。取肠道内容物, 将肠道内容物用无菌水稀释后, 在40℃水浴中保温30 min, 使酶蛋白充分溶出, 2 000 r/min离心10 min后取上清液, 分别分析木聚糖酶、纤维素酶、蛋白酶、淀粉酶的活性。木聚糖酶活、纤维素酶活和淀粉酶活均采用DNS比色法进行测定, 木聚糖酶活以1 g肠道内容物在50℃作用30 min生成1 μg还原糖定义为一个酶活单位U, 纤维素酶活以1 g肠道内容物在50℃作用30 min生成1 μg还原糖定义为一个酶活单位U, 淀粉酶活以1 g肠道内容物在40℃作用30 min生成1 μg还原糖定义为一个酶活单位U, 蛋白酶活采用福林-酚法进行测定, 以1 g肠道内容物在37℃作用30 min生成1 μg氨基酸定义为一个酶活单位U。

1.2.9 统计学分析 用SPSS19.00软件处理数据, 各分组所得计量数据采用平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两组间均数比较用t检验, $P < 0.05$ 表示有显著性差异, $P < 0.01$ 表示有极显著性差异。

2 结果与分析

2.1 超微七味白术散与酵母菌联用对菌群失调腹泻小鼠粪便的影响

治疗期间观察小鼠粪便, 结果见表1。小鼠治疗前后粪便颜色、含水量、黏度等均发生变化, 治疗第1天, 小鼠新鲜粪便颜色都仍为黑色, 且比较湿润; 治疗第2天, 所有小鼠粪便较治疗第1天更稀, 可能是抗生素致泻的延迟反应, 治疗组小鼠新鲜粪便颜色开始变黄, 模型组小鼠粪便仍为黑色; 治疗第3天, 50%量超微汤药组、50%量超微汤药+12.5%量酵母组、25%量超微汤药+25%量酵母组小鼠粪便转干, 颜色变淡, 而模型组、12.5%量超微汤药+50%量酵母组、全量酵母组小鼠粪便仍较稀湿, 颜色较深。

2.2 超微七味白术散与酵母菌联用对菌群失调腹泻小鼠体重的影响

由图1可知, 治疗结束后, 给药组和模型组体重增长率在数值上均高于正常组, 但和正常组比较均无统计学意义($P > 0.05$), 这与治疗过程中各给药组小鼠腹泻症状不断缓解, 模型组小鼠也在不断自我恢复, 各组小鼠的精神状态逐渐好转, 进食量增加有关, 但七味白术散、酵母菌及七味白术散与酵母菌联用对小鼠体重影响均不显著。

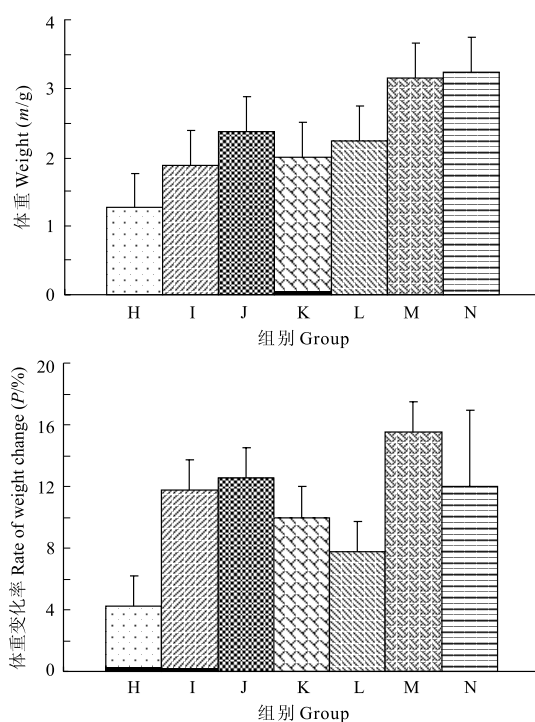


图1 超微七味白术散与酵母菌联用对菌群失调腹泻小鼠体重(A)及体重变化率(B)的影响($\bar{x} \pm s$, $N = 6$)。H: 正常组; I: 模型组; J: 50%量超微七味白术散组; K: 50%量超微七味白术散+12.5%量酵母组; L: 25%量超微七味白术散+25%量酵母组; M: 12.5%量超微七味白术散+50%量酵母组; N: 酵母全量组。

Fig. 1 Effect of ultra-micro powder Qiweibaizhusan combined with yeast on body weight (A) or rate of weight change (B) of dysbacteriosis diarrheal mice ($\bar{x} \pm s$, $N = 6$). H: Control group; I: Model group; J: 50% ultra-micro powder Qiweibaizhusan group; K: 50% ultra-micro powder Qiweibaizhusan + 12.5% yeast group; L: 25% ultra-micro powder Qiweibaizhusan + 25% yeast group; M: 12.5% ultra-micro powder Qiweibaizhusan + 50% yeast group; N: Yeast group.

2.3 超微七味白术散与酵母菌联用对菌群失调腹泻小鼠免疫器官的影响

由图2可知, 比较给药组与模型组、正常组的脾脏指数, 均无显著性差异($P > 0.05$), 而模型组与正常组比较也无统计学差异($P > 0.05$), 给药组胸腺指数显著高于模型组($P < 0.05$), 而与正常组则无显著差异($P > 0.05$), 正常组胸腺指数显著高于模型组($P < 0.05$), 结果提示抗生素对胸腺的发育有一定的抑制作用, 超微七味白术散中多糖等活性成分及酵母菌细胞壁中所含有的甘露聚糖等都能增强机体的免疫力^[26], 能促进胸腺发育, 显著提高胸腺指数($P < 0.05$), 而脾脏指数的增高则可能与超微七味白术散及酵母菌无显著关联作用。

2.4 超微七味白术散与酵母菌联用对菌群失调腹泻小鼠肠道微生物的影响

由表2可知, 治疗结束后, 模型组大肠杆菌数、真菌数明显高于正常组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 细菌总数、双歧杆菌数和乳酸菌数显著低于正常组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 50%量超微汤药组、50%量超微汤药+12.5%量酵母菌组、25%量超微汤药+25%量酵母组、12.5%量超微汤药+50%量酵母组及全量酵母组的大肠杆菌数较模型组均显著降低($P < 0.05$), 其中50%量超微汤药和25%量超微汤药+25%量酵母治疗组

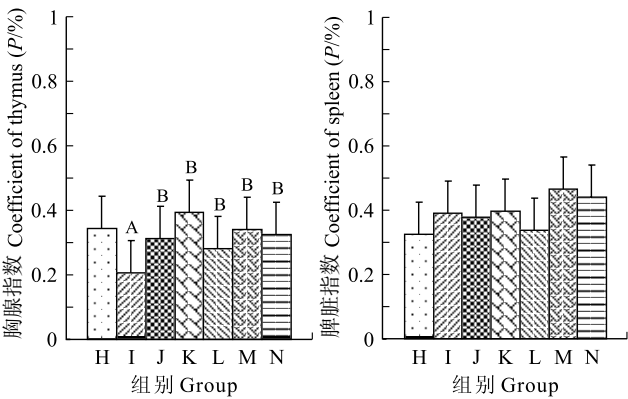


图2 超微七味白术散与酵母菌联用对菌群失调腹泻小鼠免疫器官的影响($\bar{x} \pm s$, $N = 6$). H: 正常组; I: 模型组; J: 50%量超微七味白术散组; K: 50%量超微七味白术散+12.5%量酵母组; L: 25%量超微七味白术散+25%量酵母组; M: 12.5%量超微七味白术散+50%量酵母组; N: 酵母全量组. A: 较之正常组, $P < 0.05$; B: 较之模型组, $P < 0.05$.

Fig. 2 Effect of ultra-micro powder Qiweibaizhusan combined with yeast on the immune organ of dysbacteriosis diarrheal mice ($\bar{x} \pm s$, $N = 6$). H: Control group; I: Model group; J: 50% ultra-micro powder Qiweibaizhusan group; K: 50% ultra-micro powder Qiweibaizhusan + 12.5% yeast group; L: 25% ultra-micro powder Qiweibaizhusan + 25% yeast group; M: 12.5% ultra-micro powder Qiweibaizhusan + 50% yeast group; N: Yeast group. A: $P < 0.05$ compared with the control group; B: $P < 0.05$ compared with the model group.

表1 超微七味白术散与酵母菌联用对菌群失调腹泻小鼠粪便的影响
Table 1 Effect of ultra-micro powder Qiweibaizhusan combined with yeast on feces of dysbacteriosis diarrheal mice

组别 Group	造模后粪便 稀湿情况 Feces character after molding	治疗后粪便 稀湿情况 Feces character after treatment
正常组 Control group	+	+
模型组 Model group	---	--
50%量超微七味白术散组 50% ultra-micro powder Qiweibaizhusan group	---	+
50%量超微七味白术散+12.5% 量酵母组 50% ultra-micro powder Qiweibaizhusan + 12.5% yeast group	---	+
25%量超微七味白术散+25%量 酵母组 25% ultra-micro powder Qiweibaizhusan + 25% yeast group	---	+
12.5%量超微七味白术散+50% 量酵母组 12.5% ultra-micro powder Qiweibaizhusan + 50% yeast group	---	-
酵母全量组 Yeast group	---	-

+: 粪便干燥; -: 粪便稀湿程度, “-” 越多, 稀湿度越高。
+: dry feces; -: wet feces.

的大肠杆菌数与正常组最为接近, 无明显差异. 各治疗组细菌数、双歧杆菌数、乳酸菌数及真菌数较模型组均有所增加 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 其中25%量超微汤药+25%量酵母组

的细菌数与正常组的最为接近 ($P > 0.05$); 50%量超微汤药+12.5%量酵母组和25%量超微汤药+25%量酵母组的双歧杆菌数和乳酸菌数与50%量超微汤药组接近, 差异不显著 ($P > 0.05$), 酵母组的双歧杆菌数、乳酸菌数和真菌数均高于其他组别 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$). 因此, 25%量超微汤药+25%量酵母对菌群失调腹泻小鼠肠道微生物的调控作用与50%量超微汤药的疗效最为接近, 全量酵母对肠道有益菌双歧杆菌和乳酸菌增殖具有显著促进作用 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$). 七味白术散复杂的化学成分, 既对有害菌起到了杀菌和抑菌的作用, 又可使有益菌发挥生物拮抗作用, 酵母菌提供营养底物给肠道微生物菌群, 从而改善肠道内环境, 并能促进乳酸菌等有益菌的繁殖, 二者共同作用, 调控肠道微生物的平衡.

2.5 超微七味白术散与酵母菌联用对菌群失调腹泻小鼠肠道酶活性的影响

由表3可知, 模型组的小鼠肠道内纤维素酶活性比正常组高, 而木聚糖酶、蛋白酶及淀粉酶活性比正常组低, 差异极显著 ($P < 0.01$). 各治疗组, 经药物治疗后, 纤维素酶与模型组比较均有所降低, 具有显著性差异 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 与正常组比较差异性不显著 ($P > 0.05$); 50%超微量给药后, 木聚糖酶、淀粉酶和蛋白酶活性均有所上升, 但与正常组比较还具有极显著差异 ($P < 0.01$); 25%量超微汤药+25%量酵母组治疗后, 纤维素酶活与正常组比较无显著差异 ($P > 0.05$), 木聚糖酶和蛋白酶活性虽有所恢复, 但与正常组比较还存在极显著性差异 ($P < 0.01$); 淀粉酶活性在12.5%超微量+50%酵母量组活性最低, 在25%量超微汤药+25%量酵母组活性最高; 在加入酵母的药物中蛋白酶活性均高于50%量超微汤药组, 其中25%量超微汤药+25%量酵母组与12.5%量超微汤药+50%量酵母组与之比较具有极显著性差异 ($P < 0.05$). 说明超微七味白术散与酵母菌联用在一定程度上能提高蛋白酶活性.

3 讨论

随着抗生素的广泛使用, 其常见的副反应中抗生素相关性腹泻 (Antibiotic-associated diarrhea, AAD) 受到越来越多的重视. 抗生素使肠道正常菌群失调, 生理性细菌大量减少, 而条件致病菌大量繁殖; 使多糖发酵成短链脂肪酸减少, 未经发酵的多糖不易被吸收, 滞留于肠道而引起渗透性腹泻; 抗生素的直接作用可引起肠黏膜损害、肠上皮纤毛萎缩及细胞内酶的活性降低, 或者与肠道内胆汁结合使脂肪吸收减少, 从而导致吸收障碍性腹泻^[27]. 本研究显示, 超微七味白术散与酵母菌虽然能够治疗菌群失调腹泻, 但是肠道酶活并没有恢复至正常组水平, 这与受损的肠粘膜不能在短时间内迅速恢复有一定的关联.

微生态制剂的使用是目前治疗AAD的方法之一^[28], 最常用的微生态制剂生产菌种包括乳酸菌、双歧杆菌和酵母菌等. 腹泻常伴有肠道菌群失调^[29-31], 微生态疗法的提出为治疗腹泻开辟了新途径^[31]. 服用酵母菌可补充人体肠道正常生理性细菌, 并在肠道内定植, 构成生物屏障; 产生乙酸、乳酸等有机酸和其他活性物质, 进而又形成化学屏障; 抑制或拮抗多种致病菌或条件致病菌, 恢复体内生态平衡, 有助于腹泻

表2 超微七味白术散与酵母菌联用对菌群失调腹泻小鼠肠道微生物的影响 ($\bar{x} \pm s$, $N = 6$)Table 2 Effect of ultra-micro powder Qiweibaizhusan combined with yeast on intestinal microbes in dysbacteriosis diarrheal mice ($\bar{x} \pm s$, $N = 6$)

组别 Group	大肠杆菌 Colibacillus ($n/10^5$ CFU g^{-1})	细菌 Bacteria ($n/10^8$ CFU g^{-1})	双歧杆菌 Bifidobacteria ($n/10^9$ CFU g^{-1})	乳酸菌 Lactobacillus ($n/10^9$ CFU g^{-1})	真菌 Fungi ($n/10^5$ CFU g^{-1})
正常组 Control group	4.3333 $\pm$ 2.0817	5.3867 $\pm$ 0.2376	3.8000 $\pm$ 0.2706	2.2667 $\pm$ 0.3782	0.0300 $\pm$ 0.0100
模型组 Model group	330.6670 $\pm$ 57.1168 ^a	2.4833 $\pm$ 0.3327 ^a	2.1733 $\pm$ 0.2248 ^a	1.45 $\pm$ 0.6007 ^A	0.8333 $\pm$ 0.3056 ^A
50%量超微七味白术散组 50% ultra-micro powder Qiweibaizhusan group	5.0000 $\pm$ 4.5826 ^b	4.8833 $\pm$ 0.8749 ^b	5.0667 $\pm$ 0.7068 ^{ab}	4.8400 $\pm$ 0.5411 ^{ab}	0.9333 $\pm$ 0.2517 ^a
50%量超微七味白术散+12.5%量酵母组 50% ultra-micro powder Qiweibaizhusan + 12.5% yeast group	248.0000 $\pm$ 27.5136 ^{ac}	4.2567 $\pm$ 0.2706 ^{ab}	6.1833 $\pm$ 1.0281 ^{ab}	4.5733 $\pm$ 1.1833 ^{ab}	2.900 $\pm$ 0.8185 ^{abc}
25%量超微七味白术散+25%量酵母组 25% ultra-micro powder Qiweibaizhusan + 25% yeast group	3.3333 $\pm$ 0.5774 ^{bd}	5.3633 $\pm$ 0.6668 ^{bD}	5.3167 $\pm$ 0.5011 ^{ab}	4.667 $\pm$ 0.4052 ^{ab}	4.3333 $\pm$ 0.7095 ^{abcd}
12.5%量超微七味白术散+50%量酵母组 12.5% ultra-micro powder Qiweibaizhusan + 50% yeast group	14.0000 $\pm$ 4.5826 ^{abde}	4.4733 $\pm$ 0.5273 ^{AbE}	5.4433 $\pm$ 0.4355 ^{abE}	5.1867 $\pm$ 0.7801 ^{abC}	7.300 $\pm$ 2.0664 ^{abcde}
酵母全量组 Yeast group	222.0000 $\pm$ 13.4536 ^{aBcef}	3.3167 $\pm$ 0.3814 ^{aBcdEF}	6.6467 $\pm$ 0.6107 ^{abcef}	6.3200 $\pm$ 0.5892 ^{abcdeF}	14.1000 $\pm$ 1.5040 ^{abcdef}

CFU g^{-1} : 每克肠道内容物的菌落形成单位。同正常组比较, a, $P < 0.01$, A, $P < 0.05$; 同模型组比较, b, $P < 0.01$, B, $P < 0.05$; 同50%量超微汤药组比较, c, $P < 0.01$, C, $P < 0.05$; 同50%量超微汤药+12.5%量酵母组比较, d, $P < 0.01$, D, $P < 0.05$; 同25%量超微汤药+25%量酵母组比较, e, $P < 0.01$, E, $P < 0.05$; 同12.5%量超微汤药+50%量酵母组比较, f, $P < 0.01$, F, $P < 0.05$ 。

Compared with the control group, a: $P < 0.01$, A: $P < 0.05$; compared with the model group, b: $P < 0.01$, B: $P < 0.05$; compared with the 50% ultra-micro Qiweibaizhusan group, c: $P < 0.01$, C: $P < 0.05$; compared with the 50% ultra-micro Qiweibaizhusan + 12.5% yeast group, d: $P < 0.01$, D: $P < 0.05$; compared with the 25% ultra-micro Qiweibaizhusan + 25% yeast group, e: $P < 0.01$, E: $P < 0.05$; compared with the 12.5% ultra-micro Qiweibaizhusan + 50% yeast: f: $P < 0.01$; F: $P < 0.05$ 。

表3 超微七味白术散与酵母菌联用对菌群失调腹泻小鼠肠道酶活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $N = 6$)Table 3 Effect of ultra-micro powder Qiweibaizhusan combined with yeast on intestinal enzymes activities in dysbacteriosis diarrheal mice ($\bar{x} \pm s$, $N = 6$)

组别 Group	木聚糖酶 Xylase (A/U)	纤维素酶 Cellulase (A/U)	淀粉酶 Amylase (A/U)	蛋白酶 Protease (A/U)
正常组 Control group	7.6508 $\pm$ 0.8859	0.8892 $\pm$ 0.5906	3.4423 $\pm$ 0.4498	26.6600 $\pm$ 0.06106
模型组 Model group	2.1859 $\pm$ 1.6794 ^a	3.6177 $\pm$ 0.3543 ^a	1.0783 $\pm$ 0.5733 ^a	9.2213 $\pm$ 0.5481 ^a
50%量超微七味白术散组 50% ultra-micro powder Qiweibaizhusan group	2.7722 $\pm$ 0.2709 ^a	0.8193 $\pm$ 0.2231 ^b	0.4375 $\pm$ 0.2346 ^a	9.4142 $\pm$ 0.28810 ^a
50%量超微七味白术散+12.5%量酵母组 50% ultra-micro powder Qiweibaizhusan + 12.5% yeast group	2.4053 $\pm$ 0.3141 ^a	0.8302 $\pm$ 0.3743 ^b	2.2389 $\pm$ 1.5591 ^B	9.9361 $\pm$ 0.7749 ^a
25%量超微七味白术散+25%量酵母组 25% ultra-micro powder Qiweibaizhusan + 25% yeast group	1.8700 $\pm$ 0.2613 ^{aCD}	0.9215 $\pm$ 0.4872 ^b	3.1420 $\pm$ 0.5683 ^{bC}	13.0881 $\pm$ 0.5526 ^{abcd}
12.5%量超微七味白术散+50%量酵母组 12.5% ultra-micro powder Qiweibaizhusan + 50% yeast group	0.02118 $\pm$ 0.0185 ^{aBcde}	1.4083 $\pm$ 0.8776 ^B	0.2899 $\pm$ 0.1711 ^{aBcDe}	13.9556 $\pm$ 0.9784 ^{abcd}
酵母全量组 Yeast group	1.6932 $\pm$ 0.8171 ^{aCF}	1.0521 $\pm$ 0.3648 ^b	0.4990 $\pm$ 0.4864 ^{aBDe}	9.4701 $\pm$ 0.1908 ^{aef}

CFU g^{-1} : 每克肠道内容物的菌落形成单位。同正常组比较, a, $P < 0.01$, A, $P < 0.05$; 同模型组比较, b, $P < 0.01$, B, $P < 0.05$; 同50%量超微汤药组比较, c, $P < 0.01$, C, $P < 0.05$; 同50%量超微汤药+12.5%量酵母组比较, d, $P < 0.01$, D, $P < 0.05$; 同25%量超微汤药+25%量酵母组比较, e, $P < 0.01$, E, $P < 0.05$; 同12.5%量超微汤药+50%量酵母组比较, f, $P < 0.01$, F, $P < 0.05$ 。

Compared with the control group, a: $P < 0.01$, A: $P < 0.05$; compared with the model group, b: $P < 0.01$, B: $P < 0.05$; compared with the 50% ultra-micro Qiweibaizhusan group, c: $P < 0.01$, C: $P < 0.05$; compared with the 50% ultra-micro Qiweibaizhusan + 12.5% yeast group, d: $P < 0.01$, D: $P < 0.05$; compared with the 25% ultra-micro Qiweibaizhusan + 25% yeast group, e: $P < 0.01$, E: $P < 0.05$; compared with the 12.5% ultra-micro Qiweibaizhusan + 50% yeast: f: $P < 0.01$; F: $P < 0.05$ 。

的治愈。有研究显示, 酵母菌可直接抑制致病微生物的生长繁殖, 抑制对黏膜细胞的粘附和侵袭^[33]; 可刺激肠黏膜分泌分泌型IgA和其他免疫球蛋白, 增强肠道免疫屏障功能; 能释放益生物质(精胺和亚精胺), 提高二糖酶活性, 促进黏膜再生修复。本研究证实添加酵母菌的超微七味白术散能够提高小鼠的胸腺指数, 这也许是由于超微七味白术散与酵母菌联用能够降低大肠杆菌的数量, 从而减少了硫化氢气体对小鼠的刺激作用, 胸腺能够正常发育, 从而使得胸腺指数提高, 增强小鼠的免疫力。七味白术散对课题组所选的酵母菌的生长有促进作用, 酵母菌虽并非肠道固有的微生物区系, 但是能以存活的状态沿着动物的消化道运行, 发挥作用^[34], 该联合制剂在进入胃肠道后, 酵母菌的繁殖能力和活力均加

强, 能有效抑制病原微生物的繁殖, 参与病原微生物生存性竞争, 排斥病原菌在胃肠黏膜表面的附着, 协助机体消除毒素及病原菌代谢物, 防止毒素和废物的吸收, 增强机体免疫和抗病力^[35], 从而达到治疗的目的。本研究证实, 七味白术散25%量超微汤药+25%量酵母配伍治疗菌群失调小鼠腹泻的效果与超微七味白术散50%量相当, 从而可为临床治疗和新药的开发与生产提供科学依据。

参考文献 [References]

- 1 杨光文. 七味白术散治疗小儿腹泻42例临床观察[J]. 中国社区医师, 2009, 25 (14): 39 [Yang GW. Qiweibaizhusan powder treatment of 42 cases of diarrhea in children [J]. Chin Community Doctors, 2009, 25 (14):

- 39]
- 2 李刚. 七味白术散加减治疗小儿霉菌性肠炎48例[J]. 陕西中医, 2009, **30** (3): 322-323 [Li G. Effect of Qiweibaizhusan powder on the treatment of fungi enteritis in 48 children patients [J]. *Shanxi J Trad Chin Med*, 2009, **30** (3): 322-323]
- 3 李纪三. 七味白术散加减治疗溃疡性结肠炎[J]. 医药论坛杂志, 2009, **30** (12): 96-97 [Li JS. Effect of Qiweibaizhusan powder on the treatment of ulcerative colitis [J]. *J Med Forum*, 2009, **30** (12): 96-97]
- 4 刘双英. 七味白术散治疗小儿脾虚湿盛型腹泻120例[J]. 陕西中医, 2009, **30** (10): 1331-1332 [Li SY. Effect of Qiweibaizhusan powder on the treatment of pediatric spleen dampness type diarrhea in 120 children patients [J]. *Shanxi J Trad Chin Med*, 2009, **30** (10): 1331-1332]
- 5 李春颖. 七味白术散加味治疗抗生素相关性腹泻疗效观察[J]. 中日友好医院学报, 2010, **24** (5): 292-293 [Li CY. Qiweibaizhu powder modified treatment of antibiotic-associated diarrhea outlook [J]. *Sino-Jpn Friendship*, 2010, **24** (5): 292-293]
- 6 谭周进, 吴海, 刘富林, 蔡莹, 蔡光先, 张华玲, 曾奥. 超微七味白术散对肠道微生物及酶活性的影响[J]. 生态学报, 2012, **32** (21): 6856-6863 [Tan ZJ, Wu H, Liu FL, Cai Y, Cai GX, Zhang HL, Zeng A. Effect of ultra-micro powder Qiweibaizhusan on the intestinal microbiota and enzyme activities in mice [J]. *Acta Ecol Sin*, 2012, **32** (21): 6856-6863]
- 7 王文建. 国内儿科微生态制剂的临床应用[J]. 中国实用儿科杂志, 2010, **25** (7): 557-559 [Wang WJ. Domestic pediatric clinical application of probiotics [J]. *Chin J Practical Pediatrics*, 2010, **25** (7): 557-559]
- 8 王定昌. 浅谈食品酵母的营养与生产应用[J]. 粮油食品科技, 2010, **18** (2): 65-67 [Wang DC. On the nutrition of the food yeast and production applications [J]. *Cereals Oils Food Sci Technol*, 2010, **18** (2): 65-67]
- 9 Giuseppe L, Antonio I, Franco N. Effectiveness of *Aureobasidium pullulans* and *Candida oleophila* against postharvest strawberry rots [J]. *Postharvest Biol Technol*, 1997, **10** (2): 169-178
- 10 Ohnson S, Sypura WD, Gerding DN. Selective neutralization of a bacterial enterotoxin by serum immunoglobulin A in response to mucosal disease [J]. *Infect Immun*, 1995, **63** (8): 3166-3173
- 11 施安辉. 益生菌制剂的主要类群、作用机理及应用[J]. 中国饲料添加剂, 2009, **92** (3): 1-4 [Shi AH, The main groups of probiotics, mechanisms and applications [J]. *China Feed Addition*, 2009, **92** (3): 1-4]
- 12 梁金花, 李荣辉, 夏燕杰. 中药微生态调节剂的发展现状与展望[J]. 中医研究, 2012, **25** (10): 78-80 [Liang JH, Li RH, Xia YJ. Microbial modulator current development of Chinese medicine and prospects [J]. *Chin Med Res*, 2012, **25** (10): 78-80]
- 13 王威, 杨强. 微生态制剂及其临床应用和研究进展[J]. 临床消化病杂志, 2010, **22** (1): 58-61 [Wang W, Yang Q. Progress and its clinical application of probiotics [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2010, **22** (1): 58-61]
- 14 王君. 微生态制剂研究进展与应用现状[J]. 现代畜牧兽医, 2007 (1): 58-60 [Wang J. Research progress and application of probiotics [J]. *Mod Anim Husbandry Vet* 2007 (1): 58-60]
- 15 丁柯, 倪学勤, 潘康成. 中草药和乳酸杆菌合生元的研究[J]. 中国家禽, 2003, **25** (2): 12-13 [Ding K, Ni XQ, Pan KC. Chinese herbal medicine research and Lactobacillus synbiotics [J]. *Chin Poultry*, 2003, **25** (2): 12-13]
- 16 刘志恒. 现代微生物生态学[M]. 北京: 科学出版社, 2002 [Liu ZH. Modern micro-ecology [M]. Beijing: Science Press, 2002]
- 17 崔法新. 中药加微生态制剂(金双歧)治疗对抗生素无效小儿细菌性痢疾55例疗效观察[J]. 新中医, 2005, **37** (2): 19-20 [Cui FX. Treatment of antibiotic-resistant bacillary dysentery in children by Chinese herbal medicine associated with ecologic preparation: a clinical observation of 55 cases [J]. *New J Trad Chin Med*, 2005, **37** (2): 19-20]
- 18 邢广林, 李同树, 刘翠艳, 苗静, 张佰华. 甘露寡糖、中药和微生态制剂对肉鸡抗氧化性能的影响[J]. 家畜生态学报, 2007, **28** (1): 47-51 [Xing GL, Li TS, Liu CY, Miao J, Zhang BH. The effect on Chinese herbal medicine, mannanoligos charidex, microeconomics on antioxidant capability of broilers [J]. *Acta Ecol Anim Domastici*, 2007, **28** (1): 47-51]
- 19 郭抗萧, 周赛男, 谭周进, 蔡莹, 余颜, 蔡光先. 七味白术散对肠道酵母菌的抑制作用研究[J]. 现代生物医学进展, 2013, **13** (27): 5259-5263 [Guo KX, Zhou SN, Tan ZJ, Cai Y, She Y, Cai GX. Study on inhibition and boosting action of Qiweibaizhusan to intestinal yeast [J]. *Progr Mod Biomed*, 2013, **13** (27): 5259-5263]
- 20 陈梅枝, 郭爱红. 布拉酵母预防小儿肺炎激发腹泻疗效观察[J]. 山东医药, 2010, **50** (9): 97 [Chen MZ, Guo AH. *Saccharomyces boulardii* prevent pneumonia in children with diarrhea excited efficacy [J]. *Shandong Pharm*, 2010, **50** (9): 97]
- 21 谭周进, 张华玲, 周赛男, 余望胎, 曾奥, 蔡莹, 蔡光先. 菌群失调小鼠腹泻造模及超微中药干预过程中肠道微生物的变化[J]. 应用与环境生物学报, 2013, **19** (3): 449-453 [Tan ZJ, Zhang HL, Zhou SN, Yu WY, Zeng A, Cai Y, Cai GX. Change of intestinal microbes in dysbacteriosis-modeled mice treated with ultra-micro powder of Qiweibaizhusan [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2013, **19** (3): 449-453]
- 22 沈萍, 陈向东. 微生物学实验[M]. 4版. 北京: 高等教育出版社, 2008 [Shen P, Chen XD. Microbiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2008]
- 23 贺石林, 王键, 王净净. 中医科研设计与统计学[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2006: 48-49 [He SL, Wang J, Wang JJ. TCM research design and statistical [M]. Changsha: Hunan Science and Technology Press, 2006: 48-49]
- 24 赵斌, 何绍江. 微生物学实验[M]. 北京: 科学出版社, 2002 [Zhao B, He SJ. Microbiology [M]. Beijing: Science Press, 2002]
- 25 林清华. 免疫学实验[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 1999 [Lin QH. Experimental immunology [M]. Wuhan: Wuhan University Press, 1999]
- 26 朱俭, 曹凯鸣, 周润琦. 生物化学实验[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1981 [Zhu J, Cao KM, Zhou RQ. Biochemical experiments [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1981]
- 27 郭抗萧, 周赛男, 曾奥, 张华玲, 吴海, 谭周进. 酵母菌的微生态调节作用[J]. 中国微生物学杂志, 2013, **25** (1): 94-103 [Guo KX, Zhou SN, Zeng A, Zhang HL, Wu H, Tan ZJ. Microecological function of yeast [J]. *Chin J Microecol*, 2013, **25** (1): 94-103]
- 28 Lembecke B, Kist M, Lentze MJ. Antibiotic-associated diarrhea: therapeutic aspects and practical guidelines-an inter-disciplinary

- approach to a common problem [J]. *Schweiz Rundsch Med Prax*, 2003, **92** (17): 809-816
- 29 曹艳菊, 张豫生, 许连壮, 米晓森, 王惠. 微生态制剂对抗生素相关性腹泻预防作用的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, **17** (1): 17-19 [Cao YJ, Zhang YS, Xu LZ, Mi XS, Wang H. Prevention of antibiotic-associated diarrhea with microecological modulators [J]. *Chin J Nosocomiol*, 2007, **17** (1): 17-19]
- 30 王慕逖. 儿科学[M]. 5版. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 265 [Wang MQ. Pediatrics [M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2000: 265]
- 31 王茂贵. 微生态调节剂在儿科临床应用的评价[J]. 中国实用儿科杂志, 2002, **17** (3): 254 [Wang MG. Micro-quarter state regulators evaluated in pediatric clinical applications [J]. *Chin J Pediatr*, 2002, **17** (3): 254]
- 32 罗先琼, 符振华, 陈少华, 龙云, 王伟光. 微生态制剂治疗婴幼儿腹泻疗效观察[J]. 实用医学杂志, 1995, **11** (8): 541 [Luo XQ, Fu ZH, Chen SH, Long Y, Wang WG. Probiotics Efficacy of treatment of infantile diarrhea [J]. *Practical J Med*, 1995, **11** (8): 541]
- 33 Czerucka D, Rampal P. experimental effects of *Saccharomyces boulardii* on diarrheal pathogens [J]. *Microbes Infect*, 2002, **4** (7): 733-739
- 34 楚杰, 刘可春, 何秋霞, 韩利文. 酵母益生菌在单胃及反刍动物中的作用机制[J]. 中国畜牧兽医, 2009, **36** (8): 14-17 [Chu J, Liu KC, He QX, Han LW. Yeast probiotic mechanisms in the stomach of ruminants in a single [J]. *China Anim Husbandry Vet*, 2009, **36** (8): 14-17]
- 35 张爱忠, 卢德勋, 姜宁, 高民, 胡红莲. 酵母培养物对绒山羊机体抗氧化能力的影响[J]. 动物营养学报, 2010, **22** (3): 781-786 [Zhang AZ, Lu DX, Jiang N, Gao M, Hu HL. Effects of yeast on antioxidant ability in cashmere goats [J]. *Chin J Anim Nutr*, 2010, **22** (3): 781-786]