

儿童抗幽门螺旋杆菌感染治疗对肠道菌群影响的研究*

张月芳^{1a}, 马芳莲², 朱亚宁^{1b}, 王伟^{1a}, 杨丽芳^{1a}, 归巧娣^{1c} (1. 陕西省人民医院

a. 预防保健科; b. 药剂科; c. 检验科, 西安 710068; 2. 西安医学院, 西安 710068)

摘要:目的 探讨抗幽门螺旋杆菌 (*helicobacter pylori*, Hp) 感染治疗对患儿肠道菌群的影响, 为预防抗生素所致肠道不良反应提供实验依据。方法 收集2013年12月~2014年7月在陕西省人民医院消化内科、儿科共60例患儿, 对Hp阳性患儿使用克拉霉素片、阿莫西林/克拉维酸钾片和奥美拉唑肠溶胶囊抗Hp菌治疗10天后, 留取新鲜粪便标本进行肠道菌群分析。分别称取患儿治疗前后的新鲜粪便1.0 g, 进行肠道菌群培养, 鉴定肠道菌群的菌种, 将其数量和检出率等观察指标进行统计学分析。结果 肠杆菌、肠球菌、双歧杆菌、类杆菌和乳杆菌在抗Hp感染治疗前后患儿肠道的检出率均为100%。治疗后双歧杆菌、乳杆菌数量下降, 差异有统计学意义 ($t=44.745\sim49.19$, $P<0.01$), 其余肠杆菌、肠球菌、类杆菌、产气荚膜梭菌和酵母菌五类菌种治疗前后的数量差异无统计学意义 ($P>0.05$)。治疗后患儿肠道微生物定植抗力值(B/E值) 0.69 ± 0.33 , 较治疗前 1.18 ± 0.44 降低 ($t=7.715$, $P<0.05$)。结论 抗Hp感染治疗易引起患儿双歧杆菌和乳杆菌菌群紊乱, 患儿肠道定植抗力降低。故抗菌药物治疗Hp感染时须注意及时补充以双歧杆菌和乳杆菌为主要成分的益生菌制剂。

关键词: 儿童; 幽门螺旋菌感染; 肠道菌群; 治疗

中图分类号: R378.1; R446.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2015)05-032-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.05.010

Research on the Effects of Anti *Helicobacter Pylori* Infection on Intestinal Flora of Children

ZHANG Yue-fang^{1a}, MA Fang-lian², ZHU Ya-ning^{1b}, WANG Wei^{1a},

YANG Li-fang^{1a}, GUI Qiao-di^{1c} (1a. Prevention and Health Section;

1b. Department of Pharmacy; 1c. Department of Clinical Laboratory, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China; 2. Xi'an Medical College, Xi'an 710068, China)

Abstract: **Objective** To discuss the effect of anti *helicobacter pylori* on children's intestinal bacteria quantity, and provide experimental basis for prevention of antibiotics which may cause intestinal adverse reactions. **Methods** Gathered 60 pediatric patients in the department of internal medicine and department of pediatrics in Shaanxi People's Hospital from December, 2013 to July, 2014. After using Clarithromycin Tablets, Amoxicillin and Clavulanate Potassium Tablets and Omeprazole Enteric-coated Capsules to Hp positive children for anti Hp therapy for 10 days, took fresh fecal specimens for intestinal flora analysis. 1.0 g fresh dejection was taken before and after the treatment, and intestinal bacteria in it was cultivated and identified. The observation indexes such of Intestinal flora such as microbial numbers were then statistically analyzed. **Results** The detection rate of enterobacter, enterococcus, bifidobacterium, bacteroides and lactobacillus in the intestinal tract of children were 100% either before or after the treatment. After treatment, the number of bifidobacterium and lactobacillus decreased. The lactobacillus's and bifidobacterium's P values were smaller than 0.01 before and after the treatment, which showed statistical significance, while other five's P values were higher than 0.05, which showed no statistical significance. The B/E value was lower after treatment ($P<0.05$). **Conclusion** The therapy of anti *H. pylori* infection can cause bifidobacterium and lactobacillus flora disorder to children, and make children less resistant to colonization in intestinal tracts. Should supply the probiotic preparation which mainly consists of bifidobacterium and lactobacillus in time when using a large number of antibiotics to treat Hp infection.

Keywords: children; *H. pylori* infection; intestinal flora; treatment

幽门螺旋杆菌 (*helicobacter pylori*, Hp) 是目前已被证实的唯一一种能够在高酸性条件下生活在胃部的细菌^[1], 是慢性胃炎和消化性溃疡的重要致病因素。大量研究表明, 超过 80% 的胃溃疡或

十二指肠溃疡均是由幽门螺旋菌感染导致的^[2,3]。世界卫生组织 (WHO) 已宣布, Hp 可导致胃癌发生, 是一种可以致癌的原核微生物。所以, 抗幽门螺旋杆菌感染治疗在内科治疗胃十二指肠疾病中

* 基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目 (81201426)。

作者简介: 张月芳 (1964—), 女, 主管护师, 主要从事儿童保健工作, E-mail: 549142855@qq.com。

通讯作者: 王伟, 博士, 副主任医师, 主要从事儿童生长发育偏离的评估与干预。

有着及其重要的地位与作用^[4,5]。近年来研究表明,我国每百人中就有50~60人患有HP感染,而在3~14岁的儿童中,罹患Hp感染儿童数量以每年7%左右的增长率递增。HP感染除了导致患儿发生慢性胃炎或消化性溃疡外,还可能导致其严重消化不良,营养不能吸收,抵抗力下降,大大危害我国儿童的健康安全^[9,10]。

本文通过观察比较Hp阳性患儿抗Hp治疗前后其肠道菌群的变化,探讨大量口服抗菌药物对肠道微生态的影响。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选择2013年12月~2014年7月在我院消化内科、儿科收治的住院患儿,经过¹³C呼气试验或胃镜取活检标本,诊断为Hp感染。以抗Hp感染治疗的60例儿童为研究对象,其中,男性Hp感染患儿33例,女性Hp感染患儿27例。年龄范围为2~14岁,平均年龄为8.2±3.8岁。病程为3个月~25个月,平均病程12.3±2.7个月。其中胃溃疡37例,十二指肠溃疡23例,并排除其它消化系统方面的疾病。

1.2 试剂与仪器

1.2.1 试剂:肠杆菌、肠球菌、酵母菌及双歧杆菌培养基均由青岛海博有限公司生产;乳酸菌培养基由上海一研有限公司生产;产气荚膜梭菌培养基由上海万疆有限公司生产;类杆菌培养基由北京奥博星有限公司生产。

1.2.2 仪器:振荡器(CHA-F型号,深圳市超杰实验仪器有限公司生产),电子恒温箱(FYL-YS-280L型号,北京福意有限公司生产)。

1.3 方法

1.3.1 抗Hp药物治疗:给予60例Hp感染的患儿克拉霉素片(国药准字02H566520;西安利君有限公司)125~250 mg,口服,q12 h。阿莫西林克拉维酸钾片(国药准字H20050586;鲁南贝特制药有限公司)228.5~342.75 mg/kg,口服,q12 h。奥美拉唑肠溶胶囊(国药准字H10950086;常州四药有

限公司)0.6~0.8 mg/kg,口服,1次/日。服药治疗时间为10天。

1.3.2 实验检测方法:分别称取治疗前和抗Hp感染治疗10天后患儿的新鲜粪便样本1.0 g,在装有其样本的试管中加入适量稀释液进行稀释,放入振荡器进行均匀振荡,然后将振荡均匀的混合液进一步稀释至 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7} 四个不同浓度,分别将不同浓度的混合液取50 μ l,用“L”型棒蘸取混合液,分别涂于不同类型的培养基中。需氧菌培养方法:将肠杆菌、肠球菌以及酵母菌培养基分别放入电子恒温箱中,恒温37℃,持续48 h;厌氧菌培养方法:将双歧杆菌培养基、乳酸菌培养基、产气荚膜梭菌培养基和类杆菌培养基,分别放置入电子恒温箱中恒温37℃,持续48 h。

采用光冈法进行细菌种属鉴定,检测最低限度为 2×10^2 CFU/g湿便。以每例Hp感染患儿在治疗前和治疗后粪便中含有的需氧菌、厌氧菌和酵母菌的菌量数和检出率,作为肠道菌群变化的观察指标。计算肠道微生物定植抗力值:我们采用近年来大多数学者所公认的粪便中测量出的双歧杆菌和肠杆菌菌量之比作为肠道微生物定植抗力的指标,即B/E值^[6]。

1.4 统计学分析 应用SPSS18.0软件分析,计量数据采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用t检验;计数资料用率表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 抗Hp治疗前后粪便中需氧菌、厌氧菌与真菌检出菌量及检出率 对调查数据进行分析,分别统计每一例Hp感染患儿在治疗前和治疗后粪便中的每一类需氧菌、厌氧菌和真菌的菌量数以及检出率。根据传统检测方法,我们选取肠球菌、肠杆菌以及酵母菌作为寄生在人类肠道的需氧菌的代表菌属,选取类杆菌、乳杆菌、双歧杆菌,以及产气荚膜梭菌作为寄生在人类肠道的厌氧菌的代表菌属。根据t检验计算P值大小,具体情况见表1。

表1 60例患儿治疗前后粪便中需氧菌与厌氧菌菌量及检出率比较

菌群		治疗前		B/E值	治疗后		B/E值	t值	P值
		菌量(lgN/g)	检出率(%)		菌量(lgN/g)	检出率(%)			
需氧菌	肠杆菌	6.59±1.63	100	1.18±0.44	9.06±0.97	100	0.69±0.33	1.083	0.392
	肠球菌	6.89±1.55	100		6.02±2.19	100		2.355	0.143
厌氧菌	双歧杆菌	7.78±1.53	100		6.26±1.47	100		44.745	0.001
	类杆菌	10.01±0.33	100		9.76±0.52	100		2.279	0.15
	乳杆菌	6.78±1.22	100		5.36±1.17	100		49.19	0
	产气荚膜梭菌	6.01±0.33	23.01		5.78±0.42	34.32		0.746	0.525
真菌	酵母菌	5.03±1.10	17.42		4.97±1.13	58.33		3.464	0.074

肠杆菌、肠球菌、双歧杆菌、类杆菌和乳杆菌这五类菌无论治疗前还是治疗后在患儿肠道的检出率均为100%，而酵母菌和产气荚膜梭菌经抗Hp感染治疗后肠道检出率均高于治疗前，双歧杆菌、乳杆菌治疗后的数量显著下降($P < 0.01$)，其余五类菌群治疗前后的数量差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 肠道微生物定植抗力 本次试验中，治疗前双歧杆菌数量为 7.78 ± 1.53 IgN/g；肠杆菌数量为 6.59 ± 1.63 IgN/g，经计算，其B/E值为 1.18 ± 0.44 ；治疗后双歧杆菌数量为 6.26 ± 1.47 IgN/g，肠杆菌数量为 9.06 ± 0.97 IgN/g，经计算，其B/E值为 0.69 ± 0.33 。

3 讨论 我们通过实验发现，经过10天的抗菌药与质子泵抑制剂的联合治疗，在治疗前后，肠杆菌、肠球菌、双歧杆菌、类杆菌和乳杆菌这五类菌在60例患儿粪便中均能检测出来(检出率100%)，治疗后双歧杆菌和乳杆菌的数量较治疗前有显著下降，与赵军魁等^[13]的报道相似。B/E值在治疗后的值仅约为治疗前的三分之一。说明患儿经抗Hp感染治疗出现肠道菌群发生紊乱和肠道定植抗力大大降低，导致其身体对条件致病菌的抑制作用大幅度降低。

儿童抗Hp感染治疗方法和治疗原则与成年人相似，儿科医生常规采用三联疗法，即足量、足疗程地使用两种抗菌药(阿莫西林、克拉霉素片)与一种质子泵抑制剂治疗。抗Hp感染治疗过程中，阿莫西林、克拉霉素片的使用可破坏肠道正常微生态平衡，致使肠道对致病菌抗定植能力减弱，致病菌形成优势菌群定植于肠道大量繁殖，使肠道正常菌群进一步减少，另外，应用质子泵抑制剂(PPI)导致胃酸度下降，使致病菌易于在上消化道繁殖，进一步破坏肠道正常菌群^[17]。

目前，有研究^[17]表明抗Hp感染治疗的同时予以服用益生菌制剂，可减少肠道菌群紊乱的发生。儿童肠道微生态平衡不稳定，易受卫生环境、疾病和抗生素等因素的影响，易导致以双歧杆菌为主的益生菌数量明显降低，菌群间正常比例失调^[16]，此外，肠道菌群失调可使一些机会菌大量增殖。人体肠道内有益菌以双歧杆菌数量最多，该菌能产生多种有机酸，刺激胃肠道，使其蠕动增加，不利于细菌在胃内停留从而减少细菌定植，抑制其它微生物的生长^[18]。在维持肠道微生态平衡，刺激机体产生特异性及非特异性免疫功能发挥着至关重要的作用^[16]。

本实验证实，抗Hp感染治疗可使患儿产生不同程度的肠道菌群紊乱，使其肠道定植抗力降低。由于本实验样本量较少，其结果尚需进一步证实。

参考文献:

- [1] 吴华,林吉涛,白开富,等. 湿疹患儿肠道菌群季改变及其与Th1/Th2平衡的相关性[J]. 实用儿科临床杂志, 2010, 25(19): 1484-1485, 1491.
Wu H, Lin JT, Bai KF, et al. Changes in intestinal flora and its correlation with Th1/Th2 balance in children with eczema[J]. J Appl Clin Pediatr, 2010, 25(19): 1484-1485, 1491.
- [2] 李忠伟. 小儿轮状病毒性肠炎100例发病特点分析[J]. 海南医学, 2009, 20(11): 103-104.
Li ZW. 100 Cases of children's rotavirus viral enteritis disease characteristics[J]. Hainan Medical, 2009, 20(11): 103-104.
- [3] 王丽媛,谢咏梅,汪志凌,等. 益生菌调节轮状病毒肠炎患儿肠道菌群的动态变化[J]. 实用儿科临床杂志, 2011, 26(7): 489-491.
Wang LY, Xie YM, Wang ZL, et al. Dynamic changes of intestinal dysbacteriosis of children with rotavirus enteritis intervened with probiotics[J]. Journal of Applied Clinical Pediatrics, 2011, 26(7): 489-491.
- [4] 焦路阳,郭庆合,宋志善,等. 豫北地区婴幼儿腹泻病毒病原学分析[J]. 新乡医学院学报, 2010, 27(6): 601-603.
Jiao LY, Guo QH, Li ZS, et al. Aetiology analysis of human epidemic gastroenteritis virus in north district of henan province[J]. Journal of Xinxiang Medical College, 2010, 27(6): 601-603.
- [5] 李薇. 稀释口服补液盐治疗轮状病毒肠炎轻中度脱水患儿192例[J]. 郑州大学学报(医学版), 2010, 45(5): 880-881.
Li W. Dilution of oral rehydration salts treatment 192 cases children with rotavirus enteritis and mild-to-moderate dehydration[J]. Journal of Zhengzhou University(Medicine), 2010, 45(5): 880-881.
- [6] 杨玲蓉,江米足. 伴或不伴呕吐的急性腹泻患儿的循证治疗指南[J]. 实用儿科临床杂志, 2010, 25(7): 533-536.
Yang LR, Jiang MZ. Evidence based guideline for the management of diarrhea with or without vomiting in children[J]. Journal of Applied Clinical Pediatrics, 2010, 25(7): 533-536.
- [7] 陈如寿,钟佳芳. 三亚地区儿童呼吸道感染的菌群分布及药敏分析[J]. 海南医学, 2012, 23(12): 102-104.
Chen RS, Zhong JF. Bacterial floral distribution and drug susceptibility analysis of respiratory tract infection about children in Sanya area[J]. Hainan Medical Journal, 2012, 23(12): 102-104.
- [8] 陈雪贞,陈德明,梁建雄. 小儿肠道手术后肠道菌群失调的预防及护理分析[J]. 中国医药科学, 2014, 4(12): 213-215.
Chen XZ, Chen DM, Liang JX. Analysis of prevention and nursing of intestinal bacilli illness in children after intestinal surgery[J]. China Medicine Pharmacy, 2014, 4(12): 213-215.
- [9] 巨爱萍. 小儿肠道菌群失调性腹泻临床分析[J]. 山西

- 医药杂志, 2011, 40(11): 1134.
- Ju AP. The clinical analysis on pediatric intestinal flora tonal diarrhea[J]. Shanxi Medical Journal, 2011, 40(11): 1134.
- [10] Hoffmann S, Koller M, Plaul U, et al. Nasogastric tube versus gastrostomy tube for gastric decompression in abdominal surgery: A prospective, randomized trial comparing patients tube-related inconvenience[J]. Langenbeck's Arch Surg, 2001, 386(6): 402-409.
- [11] 叶萍, 贺锐. 不同月龄轮状病毒性腹泻患儿肠道菌群变化的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(1): 44-46.
- Ye P, He R. The changes of intestinal flora in infant in different months with rotavirus diarrhea[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2014, 35(1): 44-46.
- [12] 王铭超, 张会敏. 医院下呼吸道肠球菌感染分布及耐药性分析[J]. 河北医药, 2008, 30(7): 1028-1029.
- Wang MC, Zhang HM. Hospital lower respiratory enterococcus infection distribution and drug resistance analysis[J]. Hebei Medical Journal, 2008, 30(7): 1028-1029.
- [13] 赵军魁, 张小平. 肠道屏障功能评估方法的现状及研究进展[J]. 河北医药, 2009, 31(22): 3134-3136.
- Zhao JK, Zhang XP. The current situation and research progress of intestinal barrier function evaluation methods[J]. Hebei Medical Journal, 2009, 31(22): 3134-3136.
- [14] 钱明, 袁君君, 李文辉. 粪便涂片在诊断腹泻患儿肠道菌群失衡中的临床意义[J]. 中国医学创新, 2011, 8(19): 80-81.
- Qian M, Yuan JJ, Li WH. The clinical significance in diagnosing dysbacteriosis of children with diarrhea by feces smear[J]. Medical Innovations of China, 2011, 8(19): 80-81.
- [15] 金忠芹, 武庆斌. 抗生素致肠道菌群失调性腹泻患儿血清降钙素原变化的意义[J]. 实用儿科临床杂志, 2011, 26(22): 1734-1735.
- Jin ZQ, Wu QB. Change of serum procalcitonin in children with antibiotics induced diarrhea of intestinal dysbacteriosis and its clinical significance[J]. Journal of Applied Clinical Pediatrics, 2011, 26(22): 1734-1735.
- [16] 曹海宁, 周昌宁. 肠道菌群与儿童免疫[J]. 当代医学, 2011, 17(26): 24-26.
- Cao HN, Zhong CN. Intestinal flora and childhood immunization[J]. Contemporary Medicine, 2011, 17(26): 24-26.
- [17] 谢睿, 杨晓钟, 高成城, 等. 标准三联加益生菌疗法和铋剂四联方案治疗幽门螺杆菌感染的对照研究[J]. 山西医科大学学报, 2014, 45(12): 1180-1182.
- Xie R, Yang XZ, Gao CC, et al. Control study on standard triple therapy combined with probiotics and bismuth quadruple therapy in treatment of anti-*Helicobacter pylori* eradication[J]. J Shanxi Med Univ, 2014, 45(12): 1180-1182.
- [18] Benno Y, Mitsuoka T. Impact of *Bifidobacterium longum* on human fecal microflora[J]. Microbiol Immunol, 1992, 36(7): 683-694.
- 收稿日期: 2015-07-30
修回日期: 2015-09-03

(上接 31 页)进一步提高。此外, Celldiff 自动分类可以节省人力及时间, 同时, 更利于白细胞分类的自动化与标准化。

参考文献:

- [1] 宋宝刚. 临床检验中血细胞形态学检验的必要性研究[J]. 中国继续医学教育, 2013, 5(4): 1-4.
- Song BG. Research on the necessity of blood cell morphological examination in clinical test[J]. China Continuing Medical Education, 2013, 5(4): 1-4.
- [2] 唐艺, 白鸽, 熊国干. 血细胞形态学检查对血液系统疾病诊断的临床价值[J]. 内科急危重症杂志, 2008, 14(5): 259-260.
- Tang Y, Bai G, Xiong GG. Clinical value of blood cell morphology detection in diagnosis of hematological diseases[J]. Journal of Internal Intersice Medicine, 2008, 14(5): 259-260.
- [3] 张迎明. 血细胞形态学检查对疾病诊断的价值研究[J]. 中外医疗, 2015(3): 170-171.
- Zhang YM. Blood cell morphological examination research value on diagnosis of diseases[J]. China Foreign Medical Treatment, 2015(3): 170-171.
- [4] 李明勇, 李焱鑫, 陈梅, 等. 血细胞分析仪白细胞分类计数量值溯源性的建立[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(6): 150-152.
- Li MY, Li YX, Chen M, et al. Measurement traceability establishment for leukocyte differential count of hematology analyzer[J]. J Mod Lab Med, 2011, 26(6): 150-152.
- [5] 段浩, 陈锋, 顾彪, 等. 血细胞分析技术及其研究进展[J]. 医疗卫生装备, 2014, 35(5): 108-111.
- Duan H, Chen F, Gu B, et al. Study of hematology analysis technology and its development[J]. Chinese Medical Equipment Journal, 2014, 35(5): 108-111.
- [6] 王建中. 外周血细胞形态学检验诊断的发展趋势[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(5): 389-392.
- Wang JZ. The future trend in laboratory diagnosis of peripheral blood cell morphology[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2013, 36(5): 389-392.
- [7] de Bitencourt ED, Voegeli CF, Santos Onzi GD, et al. Validation of the sysmex sp-1000i automated slide preparer-stainer in a clinical laboratory[J]. Rev Bras Hematol Hemoter, 2013, 35(6): 404-408.
- [8] Cornbleet PJ. Clinical utility of the band count[J]. Clin Lab Med, 2002, 22(1): 101-136.
- 收稿日期: 2014-12-30
修回日期: 2015-08-11