

益生菌预防婴幼儿抗生素相关性腹泻的 前瞻性随机对照研究

张苏薇 智娴 王梦雨 沈栋林

(徐州医科大学附属医院儿科消化病区, 江苏徐州 221000)

【摘要】目的 评价布拉氏酵母菌散及双歧杆菌四联活菌片对婴幼儿抗生素相关性腹泻 (antibiotic-associated diarrhea, AAD) 的预防作用。**方法** 选取2023年7—12月因非胃肠道感染入住徐州医科大学附属医院儿科并需抗生素治疗的3岁以下患儿作为研究对象, 采用随机数字表法随机分为对照组 ($n=47$)、布拉氏酵母菌组 ($n=70$)、双歧杆菌组 ($n=65$)。对照组根据相关诊疗规范应用抗生素及对症支持治疗。除对照组采用的治疗外, 布拉氏酵母菌组和双歧杆菌组分别加用布拉氏酵母菌散和双歧杆菌四联活菌片治疗, 并根据益生菌使用时间将布拉氏酵母菌组分为布拉氏酵母菌7 d、14 d、21 d组和双歧杆菌7 d、14 d、21 d组。比较各组患儿应用抗生素后AAD发生率和粪便球菌与杆菌比例。**结果** 布拉氏酵母菌组和双歧杆菌组的AAD发生率均低于对照组 ($P<0.017$)。布拉氏酵母菌组和双歧杆菌组AAD持续时间和住院时间均短于对照组 ($P<0.05$)。对照组在第7天、14天、21天的粪便球菌与杆菌比例均高于第1天 ($P<0.05$)。组内比较显示, 双歧杆菌14 d组、21 d组在治疗第14天的粪便球菌与杆菌比例低于第1天 ($P<0.05$); 对照组、布拉氏酵母菌14 d组、布拉氏酵母菌21 d组、双歧杆菌14 d组、双歧杆菌21 d组在治疗第14天的粪便球菌与杆菌比例低于第7天 ($P<0.05$); 对照组、布拉氏酵母菌21 d组在治疗第21天时粪便球菌与杆菌比例低于第7天及第14天 ($P<0.05$)。组别间比较显示, 第7天时, 布拉氏酵母菌7 d、14 d、21 d组以及双歧杆菌7 d、14 d、21 d组粪便球菌与杆菌比例均低于对照组 ($P<0.05$); 第14天时, 双歧杆菌14 d组和21 d组粪便球菌与杆菌比例均低于对照组和双歧杆菌7 d组 ($P<0.05$)。**结论** 布拉氏酵母菌和双歧杆菌四联活菌均能有效改善肠道菌群, 预防婴幼儿AAD的发生; 与短期治疗相比, 适当延长益生菌疗程可进一步改善肠道菌群结构。
【中国当代儿科杂志, 2024, 26 (10): 1108–1114】

【关键词】 抗生素相关性腹泻; 益生菌; 肠道菌群; 球菌与杆菌比例; 婴幼儿

A prospective randomized controlled study on probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants and young children

ZHANG Su-Wei, ZHI Xian, WANG Meng-Yu, SHEN Dong-Lin. Department of Pediatric Gastroenterology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221000, China (Shen D-L, Email: sdlin99@sina.com)

Abstract: Objective To evaluate the preventive effects of *Saccharomyces boulardii* powder and tetragenous viable *Bifidobacterium* tablets on antibiotic-associated diarrhea (AAD) in infants and young children. **Methods** Children under three years old admitted to the Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University due to non-gastrointestinal infections and requiring antibiotic treatment from July to December 2023 were enrolled. The children were randomly divided into a control group ($n=47$), a *Saccharomyces boulardii* group ($n=70$), and a *Bifidobacterium* group ($n=65$) using a random number table method. The control group received antibiotics and symptomatic supportive treatment according to relevant clinical guidelines. In addition to the treatment given to the control group, the *Saccharomyces boulardii* group and the *Bifidobacterium* group were respectively administered with *Saccharomyces boulardii* powder and tetragenous viable *Bifidobacterium* tablets. Based on the duration of probiotic use (7 days, 14 days, and 21 days), the *Saccharomyces boulardii* group was further divided into 7 d, 14 d, and 21 d subgroups, and similarly for the *Bifidobacterium* group. The incidence of AAD and ratio of cocci to bacilli in feces were compared among the groups after

【收稿日期】 2024-01-25; **【接受日期】** 2024-09-02

【作者简介】 张苏薇, 女, 硕士研究生。

【通信作者】 沈栋林, 男, 主任医师, 副教授。Email: sdlin99@sina.com

treatment. **Results** The incidence rate of AAD in both the *Saccharomyces boulardii* group and the *Bifidobacterium* group was lower than that in the control group ($P<0.017$). The duration of AAD and the length of hospital stay were shorter in the *Saccharomyces boulardii* and *Bifidobacterium* groups compared to the control group ($P<0.05$). In the control group, the ratio of cocci to bacilli in feces on days 7, 14, and 21 was higher than on day 1 ($P<0.05$). Within-group comparisons showed that the ratio of cocci to bacilli in feces on day 14 in the *Bifidobacterium* 14 d and 21 d groups were lower than on day 1 ($P<0.05$); and the ratios on day 14 in the control group, *Saccharomyces boulardii* 14 d group, *Saccharomyces boulardii* 21 d group, *Bifidobacterium* 14 d group, and *Bifidobacterium* 21 d group were lower than on day 7 ($P<0.05$). The ratios on day 21 in the control group and the *Saccharomyces boulardii* 21 d group were lower than on days 7 and 14 ($P<0.05$). Between-group comparisons indicated that on day 7, the ratios of cocci to bacilli in feces in the *Saccharomyces boulardii* 7 d, 14 d, 21 d groups, and *Bifidobacterium* 7 d, 14 d, 21 d groups were all lower than in the control group ($P<0.05$); on day 14, the ratios of cocci to bacilli in feces 14 d and 21 d groups were lower than in the control group and the *Bifidobacterium* 7 d group ($P<0.05$). **Conclusions** Both *Saccharomyces boulardii* and tetragenous viable *Bifidobacterium* can effectively improve gut microbiota and prevent the occurrence of AAD in infants and young children. Compared to short-term treatment, appropriately extending the duration of probiotic therapy can further improve the structure of gut microbiota. [Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2024, 26(10): 1108-1114]

Key words: Antibiotic-associated diarrhea; Probiotics; Gut microbiota; Ratio of cocci to bacilli; Infant and young child

抗生素相关性腹泻 (antibiotic-associated diarrhea, AAD) 是指近期曾使用或正在使用抗生素后出现腹泻, 大便呈稀便、水样便、黏液便、脓血便、血便, 或见片状、管状假膜, 且不能用各种明确原因解释。我国儿童 AAD 的发生率为 16.8%~70.59%^[1]。肠道菌群失调是 AAD 发病的基本机制, 几乎所有抗生素均可诱发 AAD。肠道菌群种类繁多, 其中最多的是厌氧菌, 例如双歧杆菌、拟杆菌、真杆菌等, 婴幼儿肠道菌群结构建立不完全、免疫力低下、胃肠道屏障功能薄弱, 应用抗生素后可导致肠道菌群数量、种类以及比例发生明显改变, 其中球菌和杆菌比例 (以下简称球杆菌比例) 的变化尤为显著^[2], 补充益生菌促进肠道优势菌群的生长可预防婴幼儿 AAD。然而不同益生菌制剂及疗程对婴幼儿 AAD 发病率的影响仍存在疑问, 欧洲小儿胃肠病肝病和营养协会强推荐布拉氏酵母菌 CNCM 1-745 菌株预防儿童 AAD^[3], 我国目前对于应用益生菌预防婴幼儿 AAD 的疗程尚无明确推荐方案^[4]。目前在防治儿童腹泻的益生菌制剂中, 以布拉氏酵母菌及双歧杆菌四联活菌应用最为广泛。本研究旨在分析布拉氏酵母菌及双歧杆菌四联活菌对婴幼儿 AAD 的预防作用及适用疗程。

1 资料与方法

1.1 研究对象

以 2023 年 7 月—2023 年 12 月于徐州医科大学附属医院住院治疗的婴幼儿为研究对象。

纳入标准: (1) 年龄: 1 月龄至 3 岁; (2) 需抗生素治疗的非胃肠道感染的患儿; (3) 入院时

无腹泻症状且粪便常规正常; (4) 入院前未应用抗生素, 且入院后抗生素使用时间不少于 3 d; (5) 患儿监护人同意参加临床观察。

排除标准: (1) 有严重免疫缺陷; (2) 进行中央静脉导管输液; (3) 住院治疗期间应用抗真菌药; (4) 既往对布拉氏酵母菌、双歧杆菌四联活菌过敏。

本研究已通过徐州医科大学附属医院伦理委员会审查 (XYFY2023-KL335-01), 且患儿监护人均签署知情同意书。

1.2 分组

本研究为单盲、前瞻性随机对照研究。由研究者利用随机数字表法产生随机数字, 对符合纳入标准的患儿根据入院顺序分配编号, 根据随机数字表产生的数字确定进入对照组、布拉氏酵母菌组、双歧杆菌组。对进入布拉氏酵母菌组和双歧杆菌组的患儿再次采用随机数字表法随机分为布拉氏酵母菌 7 d、14 d、21 d 组, 以及双歧杆菌 7 d、14 d、21 d 组。

1.3 给药方法及疗程

所有研究对象均根据其原发病诊疗规范经静脉给予抗生素及其他对症支持治疗。对照组仅应用抗生素及其他对症支持治疗。布拉氏酵母菌组患儿除应用抗生素及其他对症支持治疗外, 加用布拉氏酵母菌散。布拉氏酵母菌散由法国 BIOCODEX 制药厂生产, 生产批号 20150051, 规格 0.25 g/袋, 成分为冻干布拉氏酵母菌 (CNCM I-745), 每 1 g 药粉含活菌数不低于 1.3×10^9 CFU, 25℃ 以下干燥处密封保存。给药方法: 餐后 50℃ 以下温水冲服。给药剂量: 3 岁以下患儿,

1 包/次, 1 次/d。布拉氏酵母菌 7 d、14 d、21 d 组分别连续服用 7、14、21 d。双歧杆菌组患儿除应用抗生素及其他对症支持治疗外, 加用双歧杆菌四联活菌片。双歧杆菌四联活菌来自杭州远大生物制药公司, 生产批号 S20060010, 规格 0.5 g/片, 其中双歧杆菌、嗜酸乳杆菌和粪肠球菌应不低于 0.5×10^6 CFU, 蜡样芽孢杆菌应不低于 0.5×10^5 CFU, 2~8℃ 环境下避光保存。给药方法: 餐后 40℃ 以下温水或温牛奶送服, 需与抗生素间隔 3 h。给药剂量: 1~6 月龄患儿, 1 片/次, 2 次/d; 7~12 月龄患儿, 1 片/次, 3 次/d; 1~3 岁患儿, 2 片/次, 3 次/d。双歧杆菌 7 d、14 d、21 d 组分别连续服用 7、14、21 d。观察期间, 研究对象禁用其他益生菌制剂及或含有益生菌的食物。

1.4 AAD 的诊断标准及评价方法

AAD 的诊断标准依据 2021 年发布的《儿童抗生素相关性腹泻诊断、治疗和预防专家共识》^[1]: 近期曾使用或正在使用抗生素后出现腹泻, 大便呈稀便、水样便、黏液便、脓血便、血便, 或见片状、管状假膜, 且不能用各种明确原因解释。

评价方法: 由研究人员观察并记录患儿抗生素使用情况、临床表现等。主要观察指标: (1) 排便次数、粪便性状、粪便球杆菌比例。(2) 应用抗生素之后是否出现腹泻, 如有腹泻需记录发生和持续的时间、程度。次要观察指标: 抗生素使用情况 (种类、时长、是否联合应用)。

粪便性状评价依据布鲁塞尔婴幼儿粪便量表^[5], 腹泻程度分级参照《儿童急性感染性腹泻病诊疗规范 (2020 年版)》^[6]: (1) 轻度: 以胃肠道症状为主, 无脱水及明显全身中毒症状; (2) 中度: 胃肠道症状较重, 并出现轻、中度脱水和/或有全身中毒症状; (3) 重度: 胃肠道症状重, 重度脱水和/或有明显的全身中毒症状。

1.5 粪便球杆菌比例检测

收集受试患儿应用抗生素后第 1、3、5、7、14、21 天的粪便标本, 挑取新鲜粪便以 30~40° 角

匀速推片, 面积约 $1.0 \text{ cm} \times 2.0 \text{ cm}$, 采用革兰染色法染色后选择菌膜的体尾交界且染色均匀处, 油镜下计数 1 000 个细菌然后计算球杆菌比例。

1.6 不良反应观察

观察患儿服用益生菌后有无口干、便秘、荨麻疹、腹胀、呕吐等表现。

1.7 随访

所有患儿出院后电话随访至停用抗生素后 14 d 或益生菌疗程结束。

1.8 统计学分析

采用 SPSS 25.0 统计软件进行统计学处理与分析。符合正态分布的计量资料以均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 3 组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 法并做 Bonferroni 校正; 偏态分布数据采用中位数 (四分位数间距) [$M (P_{25}, P_{75})$] 表示, 使用广义估计方程分析法分析组别、时间的主效应及交互效应, 后使用 Kruskal-Wallis 检验、Friedman 检验、符号秩检验分析组别及时间的简单效应。计数资料以例数和百分率 (%) 表示, 多组间比较采用卡方检验及 Fisher 确切概率法, 两两比较采用卡方分割法, 根据比较的组别调整检验水准为 0.017。除卡方分割检验外, 其余检验 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

本研究最终完成临床观察及随访 182 例, 其中男性 97 例, 女性 85 例, 平均月龄 17 个月。182 例患儿中, 呼吸道感染共 149 例, 败血症或脓毒血症 16 例, 皮肤及软组织感染 8 例, 泌尿系统感染 6 例, 川崎病 3 例, 所有患儿无特殊基础疾病。研究中所有抗生素均经静脉应用, 共计 16 种, 均为广谱抗生素。对照组、布拉氏酵母菌组、双歧杆菌组的性别比例、年龄以及抗生素使用情况比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 3 组一般情况的比较

组别	例数	性别 (男/女, 例)	月龄 ($\bar{x} \pm s$, 月)	抗生素应用 (单药/联合, 例)	抗生素疗程 ($\bar{x} \pm s$, d)
对照组	47	24/23	18 ± 10	33/14	7.3 ± 2.0
布拉氏酵母菌组	70	38/32	16 ± 10	52/18	7.3 ± 2.1
双歧杆菌组	65	35/30	16 ± 10	53/12	7.1 ± 1.3
F/χ^2 值		0.130	0.570	2.056	0.339
P 值		0.937	0.566	0.358	0.713

2.2 AAD 发生情况

对照组、布拉氏酵母菌组、双歧杆菌组 AAD 发生率分别为 28%、10%、11%，其中布拉氏酵母菌组和双歧杆菌组 AAD 发生率显著低于对照组，差异有统计学意义 ($P<0.017$)。对照组、布拉氏酵母菌组、双歧杆菌组 AAD 均以轻度为主，无重度 AAD；3 组的轻度 AAD 患儿占比分别为 77% (10/13)、

86% (6/7)、71% (5/7)，差异无统计学意义 ($P>0.05$)；3 组应用抗生素后发生 AAD 的时间差异无统计学意义 ($P>0.05$)；布拉氏酵母菌组和双歧杆菌组的 AAD 持续时间、住院时间均显著短于对照组，差异均有统计学意义 ($P<0.05$)；布拉氏酵母菌组与双歧杆菌组 AAD 发生率、AAD 持续时间、住院时间的比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

表 2 3 组治疗后 AAD 发生情况及住院时间的比较

组别	例数	AAD [n(%)]	AAD 发生时间 ($\bar{x} \pm s, d$)	AAD 持续时间 ($\bar{x} \pm s, d$)	住院时间 ($\bar{x} \pm s, d$)
对照组	47	13(28)	4.7 ± 2.3	5.0 ± 1.1	10.1 ± 2.3
布拉氏酵母菌组	70	7(10) ^a	4.6 ± 1.6	3.9 ± 0.7^b	8.0 ± 1.7^b
双歧杆菌组	65	7(11) ^a	4.7 ± 4.0	4.0 ± 0.8^b	8.1 ± 1.6^b
F/χ^2 值		8.264	0.006	4.493	3.478
P 值		0.015	0.994	0.022	0.047

注：AAD 发生时间是指自应用抗生素起至开始发生 AAD 的时间。a 示与对照组相比， $P<0.017$ ，b 示与对照组相比， $P<0.05$ 。

2.3 粪便球杆菌比例

组内（时间）简单效应结果显示：7 组人群不同时间点之间粪便球杆菌比例差异均具有统计学意义 ($P<0.05$)。对照组在治疗第 7 天、第 14 天、第 21 天的粪便球杆菌比例均高于第 1 天，差异有统计学意义 ($P<0.05$)；布拉氏酵母菌 7 d、14 d、21 d 组，以及双歧杆菌 7 d、14 d、21 d 组在第 7 天的粪便球杆菌比例与第 1 天相比，差异无统计学意义 ($P>0.05$)；双歧杆菌 14 d 组和 21 d 组在治疗第 14 天的粪便球杆菌比例低于第 1 天，差异有统计学意义 ($P<0.05$)；对照组、布拉氏酵母菌 14 d 组和 21 d 组，以及双歧杆菌 14 d 组和 21 d 组在治疗第 14 天的粪便球杆菌比例低于第 7 天，差异有统计学意

义 ($P<0.05$)；对照组、布拉氏酵母菌 21 d 组在治疗第 21 天时粪便球杆菌比例低于第 7 天及第 14 天，差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

组别简单效应结果显示：第 1 天、第 21 天时，各组粪便球杆菌比例差异无统计学意义 ($P>0.05$)；第 7 天时，布拉氏酵母菌 7 d、14 d、21 d 组，以及双歧杆菌 7 d、14 d、21 d 组粪便球杆菌比例均低于对照组，差异有统计学意义 ($P<0.05$)；第 14 天时，双歧杆菌 14 d 组和 21 d 组球杆菌比例均低于对照组和双歧杆菌 7 d 组，差异有统计学意义 ($P<0.05$)，对照组、布拉氏酵母菌 7 d、14 d、21 d 组粪便球杆菌比例相比，差异无统计学意义 ($P>0.05$)，见表 3。

表 3 各组治疗后粪便球杆菌比例的比较 [$M(P_{25}, P_{75})$]

组别	例数	第 1 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天	χ^2 值	P 值
对照组	47	0.17(0.13, 0.25)	0.33(0.25, 0.50) ^a	0.30(0.20, 0.50) ^{a,b}	0.25(0.17, 0.43) ^{a,b,c}	89.972	<0.001
布拉氏酵母菌 7 d 组	24	0.19(0.13, 0.41)	0.28(0.18, 0.40) ^d	0.23(0.17, 0.41)	0.20(0.15, 0.33) ^b	9.000	0.029
布拉氏酵母菌 14 d 组	24	0.17(0.13, 0.24)	0.20(0.18, 0.30) ^d	0.20(0.15, 0.24) ^b	0.20(0.14, 0.25) ^b	14.682	0.002
布拉氏酵母菌 21 d 组	22	0.18(0.14, 0.25)	0.25(0.17, 0.40) ^d	0.20(0.17, 0.33) ^b	0.20(0.14, 0.25) ^{b,c}	18.864	0.001
双歧杆菌 7 d 组	20	0.17(0.13, 0.41)	0.29(0.14, 0.40) ^d	0.25(0.18, 0.42)	0.20(0.17, 0.40) ^b	9.018	0.029
双歧杆菌 14 d 组	24	0.19(0.14, 0.41)	0.20(0.14, 0.33) ^d	0.17(0.13, 0.32) ^{a,b,d,e}	0.16(0.13, 0.32) ^{a,b}	21.912	<0.001
双歧杆菌 21 d 组	21	0.17(0.14, 0.33)	0.20(0.17, 0.30) ^d	0.17(0.14, 0.28) ^{a,b,d,e}	0.14(0.14, 0.28) ^{a,b}	22.823	<0.001
H 值		3.176	13.614	17.324	9.266		
P 值		0.786	0.034	0.008	0.159		

注：广义估计方程分析显示，粪便球杆菌比例存在组别差异 ($\chi^2=5.737$, $P<0.001$) 和时间差异 ($\chi^2=75.510$, $P<0.001$)，组别和时间存在交互效应 ($\chi^2=102.270$, $P<0.001$)。a 示与第 1 天相比， $P<0.05$ ；b 示与第 7 天相比， $P<0.05$ ；c 示与第 14 天相比， $P<0.05$ ；d 示与对照组相比， $P<0.05$ ；e 示与双歧杆菌 7 d 组相比， $P<0.05$ 。

2.4 不良反应观察

布拉氏酵母菌组和双歧杆菌组中未见皮疹、恶心、腹胀、腹痛及呕吐等与益生菌相关的不良反应。

2.5 随访

本研究共纳入243例患儿，中途退出及失访病例共计61例，最终完成临床观察及随访182例，平均随访时间为21 d。27例AAD患儿中，有4例发生在停用抗生素后，其中对照组2例，布拉氏酵母菌组1例，双歧杆菌组1例。3组停用抗生素后AAD发生率比较差异无统计学意义($\chi^2=1.250$, $P=0.535$)。

3 讨论

肠道菌群由数万亿种微生物组成，包括细菌、真菌、单细胞生物、古细菌和病毒^[7]，应用抗生素后肠道菌群平衡被打破，宿主健康受到威胁。婴幼儿肠道菌群结构简单、肠道屏障发育不完全、免疫功能低下、饮食结构单一，发生AAD的风险远高于成人^[8]。益生菌是对宿主健康有益的活菌，用于人类营养的益生菌多属乳酸杆菌属、双歧杆菌属、肠球菌属、丙酸杆菌属和某些酵母菌如布拉氏酵母菌。既往万朝敏等^[9]、Lukasik等^[10]的临床研究证实，益生菌可显著降低婴幼儿AAD的发生率，本研究结果与之类似，即布拉氏酵母菌组和双歧杆菌组的AAD发生率和粪便球杆菌比例均显著低于对照组。益生菌防治AAD的机制可能是通过直接或间接调节菌群结构，并与肠上皮细胞、巨噬细胞、淋巴细胞等相互作用修复并强化肠黏膜屏障功能^[11]，激活多个信号通路，如NF- κ B、ERK1/2、JNK等^[12]，增加肠道内分泌型免疫球蛋白的含量，发挥肠道免疫调节作用。

本研究显示在应用抗生素后各组的粪便球杆菌比例均有升高趋势。应用抗生素后第7天时，对照组粪便球杆菌比例显著高于第1天，而双歧杆菌组及布拉氏酵母菌组粪便球杆菌比例较第1天相比差异无统计学意义，提示在应用抗生素的同时预防性加用布拉氏酵母菌或双歧杆菌四联活菌均能够有效维持粪便球杆菌比例的稳定性。双歧杆菌四联活菌片直接补充肠道原籍菌并发挥作用，体外研究将双歧杆菌四联活菌片与肠道致病菌共同培养，发现6 h后双歧杆菌四联活菌即可对大肠杆菌产生拮抗作用，48 h后双歧杆菌四联活菌数仍然

稳定^[13]，表明双歧杆菌四联活菌能够迅速发挥抑菌作用且稳定性良好。本研究应用抗生素后第14天时，双歧杆菌14 d组和21 d组粪便球杆菌比例显著低于第7天及第1天，且组别简单效应结果显示双歧杆菌14 d组和21 d组粪便球杆菌比例显著低于双歧杆菌7 d组及对照组，进一步说明，相较于7 d疗程，连用双歧杆菌四联活菌14 d不仅能够维持肠道菌群稳定，同时能进一步调节改善粪便球杆菌比例，而第21天时，双歧杆菌14 d、21 d组粪便球杆菌比例与第14天比较差异无统计学意义，提示14 d的双歧杆菌四联活菌已达到有效的菌群调节作用，延长双歧杆菌四联活菌疗程为21 d时对肠道菌群的改善作用收益甚微。综合考虑本研究中抗生素的平均应用时间以及成本效益比，推断双歧杆菌四联活菌预防婴幼儿AAD的疗程应以14 d为宜。

布拉氏酵母菌作为真菌类益生菌，天然耐受抗生素，且与细菌之间缺乏遗传物质传递，不会促进抗生素耐药性的传播^[14]，被欧洲小儿胃肠肝病和营养协会推荐用于防治AAD^[3]。本研究显示随着布拉氏酵母菌疗程的延长，粪便球杆菌比例呈持续降低趋势，但是否布拉氏酵母菌疗程越长对粪便球杆菌比例的改善作用越显著，本研究由于时间限制未进一步研究，有待临床延长治疗时间进一步探讨。值得注意的是，组别简单效应分析提示第14、21天时，对照组及布拉氏酵母菌7 d、14 d、21 d组的粪便球杆菌比例差异无统计学意义。产生这一结果可能与本研究中患儿的腹泻及菌群失调程度较轻及布拉氏酵母菌调节肠道菌群的作用机制有关，布拉氏酵母菌通过促进双歧杆菌、乳杆菌生长间接调节肠道菌群^[15]，且不能在结肠内定植，因此，单一检测粪便球杆菌比例无法全面体现布拉氏酵母菌对肠道菌群的调节作用。但本研究中布拉氏酵母菌组的轻度AAD患儿占比高且腹泻持续时间短，提示布拉氏酵母菌除间接调节肠道菌群结构外，能够有效改善肠道屏障功能，降低重症AAD的发生风险并缩短病程。布拉氏酵母菌分泌多胺，影响激酶活性和调节ERK1、ERK2和PI3K通路^[16]，多胺促进乳糖酶、麦芽糖酶、蔗糖酶等物质的合成营养肠上皮细胞^[17]。布拉氏酵母菌还可分泌分子量为54、120 kDa的蛋白酶拮抗细菌毒素阻断艰难梭菌毒素A和B与其特异性受体的结合，预防艰难梭菌感染相关性腹泻^[18]，减少重症AAD的发生。

既往Young等^[19]对健康成人应用抗生素后粪便标本进行动态16S rRNA基因测序,结果显示停用抗生素2周后肠道菌群结果与用药前基本类似,但本研究中第21天时,对照组粪便球杆菌比例仍显著高于第1天。分析产生此种差异的原因,可能是由于粪便球杆菌比例检查低估了肠道菌群的多样性,对肠道菌群特征性变化的检测作用有限^[20],但其作为一种经济便捷的检验手段,可反映肠道微生物的总体变化,为AAD的判断以及后续临床诊疗提供参考。

荟萃分析发现,在缩短AAD的腹泻持续时间方面,布拉氏酵母菌的作用显著优于双歧杆菌三联活菌^[21]。而本研究应用的双歧杆菌四联活菌与布拉氏酵母菌相比,AAD的发生率、腹泻发生及持续的时间差异无统计学意义,提示双歧杆菌四联活菌和布拉氏酵母菌预防婴幼儿AAD的作用相当。相较于双歧杆菌三联活菌片,双歧杆菌四联活菌片中新增的蜡样芽孢杆菌夺氧能力强并可产生新型抗菌蛋白^[22],使双歧杆菌四联活菌片组织耗氧量较三联活菌片增加1.2倍,可维持肠道厌氧环境,进一步增强双歧杆菌和乳杆菌的定植能力^[23]。

益生菌制剂防治AAD的安全性较高,主要不良反应包括皮疹、恶心、腹胀、腹痛及呕吐等,均在治疗过程中缓解^[24]。本研究中未见有与益生菌相关的不良反应。所有的AAD病例以轻度为主,未见重度病例,其中仅有4例AAD在停用抗生素后发生,且3组的轻度AAD患儿占比差异无统计学意义。分析原因,可能与样本量偏少,研究对象的平均年龄较大、抗生素单药占比高且强度低,原发病中无重症感染病例等因素有关。

综上所述,布拉氏酵母菌和双歧杆菌四联活菌均能够安全有效改善肠道菌群结构,预防婴幼儿AAD。与短期治疗相比,适当延长益生菌疗程可进一步改善肠道菌群结构。未来研究应致力于进一步扩大样本规模,以涵盖更广泛的群体;同时,需延长观察时间,以便更全面地评估长期效应。此外,进行多中心、随机化的临床试验至关重要,这有助于消除地域、医疗实践差异对结果的影响。特别地,应深入探讨不同年龄段人群对益生菌的反应差异,以及不同益生菌剂量在预防和治疗AAD中的具体效果,从而为临床应用提供更加精准的指导。

作者贡献声明:张苏薇负责数据整理、统计分析、论文撰写;智娴负责数据收集、论文修改;王梦雨负责数据收集;沈栋林负责文章的构思、研究设计与论文修改。

利益冲突声明:所有作者声明无利益冲突。

[参考文献]

- [1] 郑跃杰,武庆斌,方峰,等.儿童抗生素相关性腹泻诊断、治疗和预防专家共识[J].中华实用儿科临床杂志,2021,36(6):424-430. DOI: 10.3760/cma.j.cn101070-20210201-00137.
- [2] 邢志广,周伟强,沈琪琳,等.菌群失调患儿腹泻标本细菌学及pH值和球杆比变化的临床意义[J].中国妇幼保健,2007,22(32):4572-4574. DOI: 10.3969/j.issn.1001-4411.2007.32.037.
- [3] Szajewska H, Berni Canani R, Domellöf M, et al. Probiotics for the management of pediatric gastrointestinal disorders: position paper of the ESPGHAN special interest group on gut microbiota and modifications[J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2023, 76(2): 232-247. PMID: 36219218. DOI: 10.1097/MPG.0000000000003633.
- [4] 魏婷,李燕,蔡和平,等.微生态制剂儿科处方审核建议[J].中国实用儿科杂志,2022,37(6):415-423. DOI: 10.19538/j.ek2022060602.
- [5] Huysentruyt K, Koppen I, Benninga M, et al. The brussels infant and toddler stool scale: a study on interobserver reliability[J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2019, 68(2): 207-213. PMID: 30672767. DOI: 10.1097/MPG.0000000000002153.
- [6] 国家卫生健康委员会,国家中医药管理局.儿童急性感染性腹泻病诊疗规范(2020年版)[J].传染病信息,2021,34(1):前插1-前插8. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2021.01.001.
- [7] Senchukova MA. Microbiota of the gastrointestinal tract: friend or foe? [J]. World J Gastroenterol, 2023, 29(1): 19-42. PMID: 36683718. PMCID: PMC9850957. DOI: 10.3748/wjg.v29.i1.19.
- [8] Zhang H, Zhang Z, Liao Y, et al. The complex link and disease between the gut microbiome and the immune system in infants[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 924119. PMID: 35782111. PMCID: PMC9241338. DOI: 10.3389/fcimb.2022.924119.
- [9] 万朝敏,俞蕙,刘钢,等.布拉氏酵母菌预防婴幼儿抗生素相关性腹泻的多中心随机对照研究[J].中华儿科杂志,2017,55(5):349-354. PMID: 28482385. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2017.05.008.
- [10] Lukasik J, Dierikx T, Besseling-van der Vaart I, et al. Multispecies probiotic for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: a randomized clinical trial[J]. JAMA Pediatr, 2022, 176(9): 860-866. PMID: 35727573. PMCID: PMC9214631. DOI: 10.1001/jamapediatrics.2022.1973.
- [11] Mekonnen SA, Merenstein D, Fraser CM, et al. Molecular mechanisms of probiotic prevention of antibiotic-associated diarrhea[J]. Curr Opin Biotechnol, 2020, 61: 226-234. PMID: 32087535. PMCID: PMC7096272. DOI: 10.1016/j.copbio.2020.01.005.

- [12] Justino PFC, Franco AX, Pontier-Bres R, et al. Modulation of 5-fluorouracil activation of toll-like/MyD88/NF- κ B/MAPK pathway by *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 probiotic[J]. Cytokine, 2020, 125: 154791. PMID: 31401369. DOI: 10.1016/j.cyto.2019.154791.
- [13] 李雪龙, 付喜爱, 闫天文, 等. 双歧杆菌四联活菌片体外生物拮抗作用的研究[J]. 中国微生态学杂志, 2018, 30(2): 164-167. DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201802010.
- [14] 向金波, 罗军, 胡小燕, 等. 布拉氏酵母菌防治儿童抗生素相关性腹泻的研究进展[J]. 中国药房, 2021, 32(8): 1020-1024. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.08.21.
- [15] Kaźmierczak-Siedlecka K, Ruszkowski J, Fic M, et al. *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745: a non-bacterial microorganism used as probiotic agent in supporting treatment of selected diseases[J]. Curr Microbiol, 2020, 77(9): 1987-1996. PMID: 32472262. PMCID: PMC7415030. DOI: 10.1007/s00284-020-02053-9.
- [16] Wang D, Liu G, Meng Y, et al. The configuration of GRB2 in protein interaction and signal transduction[J]. Biomolecules, 2024, 14(3): 259. PMID: 38540680. PMCID: PMC10968029. DOI: 10.3390/biom14030259.
- [17] Moré MI, Vandenplas Y. *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 improves intestinal enzyme function: a trophic effects review[J]. Clin Med Insights Gastroenterol, 2018, 11: 1179552217752679. PMID: 29449779. PMCID: PMC5808955. DOI: 10.1177/1179552217752679.
- [18] Pais P, Almeida V, Yilmaz M, et al. *Saccharomyces boulardii*: what makes it tick as successful probiotic?[J]. J Fungi (Basel), 2020, 6(2): 78. PMID: 32512834. PMCID: PMC7344949. DOI: 10.3390/jof6020078.
- [19] Young VB, Schmidt TM. Antibiotic-associated diarrhea accompanied by large-scale alterations in the composition of the fecal microbiota[J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(3): 1203-1206. PMID: 15004076. PMCID: PMC356823. DOI: 10.1128/JCM.42.3.1203-1206.2004.
- [20] 韩丁丁, 张泓. 肠道微生态检测技术在预防与治疗儿童肠道感染中的应用[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(4): 280-284. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20201228-00931.
- [21] 张潇丹, 王瑞芹, 刘璐, 等. 布拉氏酵母菌对比双歧杆菌三联活菌治疗儿童腹泻有效性和安全性的 Meta 分析[J]. 中国药房, 2024, 35(2): 226-230. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2024.02.18.
- [22] 李家旭, 贝翎, 袁晚晴, 等. 非致病性蜡样芽孢杆菌的益生功能与应用[J]. 现代食品科技, 2023, 39(4): 341-348. DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.4.0453.
- [23] 李文婧, 田杨, 程虹, 等. 双歧杆菌四联活菌片药理学特性评价[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(18): 2718-2723. DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2023.18.028.
- [24] 尉耘翠, 都赛飞, 贾露露, 等. 微生态制剂预防儿童抗生素相关性腹泻的临床综合评价[J]. 实用药物与临床, 2020, 23(9): 823-831. DOI: 10.14053/j.cnki.ppcr.202009012.

(本文编辑: 邓芳明)

(版权所有©2024 中国当代儿科杂志)