

论著·临床研究

口服益生菌对早产儿肠道耐药菌定植的影响

滑心恬 唐军 母得志

(四川大学华西第二医院新生儿科, 四川 成都 610041)

[摘要] **目的** 探讨 NICU 中早产儿口服益生菌对肠道耐药菌定植的影响。**方法** 将生后立即入住 NICU 的早产儿以是否母乳喂养分层后随机分组, 试验组从开始胃肠内营养之日起添加益生菌喂养, 对照组为空白对照。比较两组生后第 1、3、7、14 天直肠拭子产超广谱 β 内酰胺酶 (ESBL) 耐药菌筛查结果及疾病发生情况。**结果** 试验组 ($n=119$) 与对照组 ($n=138$) 在第 1、3、7、14 天的直肠耐药菌定植及晚发性败血症、坏死性小肠结肠炎等疾病发生的差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。试验组非母乳喂养患儿生后第 14 天的直肠耐药菌定植率明显低于对照组非母乳喂养儿 (71.1% vs 88.9%, $P=0.04$)。未观察到益生菌使用相关不良反应发生。**结论** 早产儿使用益生菌一定条件下可能减少直肠耐药菌定植, 且具有较高安全性。

[中国当代儿科杂志, 2014, 16(6): 606-609]

[关键词] 益生菌; 耐药菌; 肠道定植菌; 早产儿

Effect of oral administration of probiotics on intestinal colonization with drug-resistant bacteria in preterm infants

HUA Xin-Tian, TANG Jun, MU De-Zhi. Department of Neonatology, West China Second University Hospital, Sichuan University. Chengdu 610041, China (Tang J, Email: tj1234753@sina.com)

Abstract: Objective To evaluate the effect of oral administration of probiotics on intestinal colonization with drug-resistant bacteria among preterm infants in the neonatal intensive care unit (NICU). **Methods** A double-blind, randomized, placebo-controlled trial was carried out in the preterm infants who were transferred to the NICU immediately after birth. These infants were stratified by whether they were breastfed and then randomized into test group and control group. The test group was given probiotics from the day when enteral feeding began, while the control group was treated conventionally without probiotics. The two groups were compared in terms of the colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria, as assessed by rectal swabs on days 1, 3, 7, and 14 after birth, and the incidence of diseases. **Results** Rectal colonization with drug-resistant bacteria was found in the test group ($n=119$) and control group ($n=138$) on days 1, 3, 7, and 14 after birth. There were no significant differences in the incidence of late-onset sepsis and necrotizing enterocolitis between the two groups ($P>0.05$). Among non-breastfed infants, the test group had significantly decreased rectal colonization with drug-resistant bacteria compared with the control group on day 14 after birth (71.1% vs 88.9%; $P=0.04$). No probiotic-related adverse events were observed in the study. **Conclusions** Oral administration of probiotics may reduce rectal colonization with drug-resistant bacteria in preterm infants under certain conditions and shows good safety.

[Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(6): 606-609]

Key words: Probiotics; Drug-resistant bacteria; Colonization; Preterm infant

新生儿重症监护病房 (neonatal intensive care unit, NICU) 中由于抗生素的广泛使用存在许多耐药微生物。其中产超广谱 β 内酰胺酶 (extended-spectrum beta-lactamase, ESBL) 的细菌是 NICU 中

最常见耐药菌之一, 国外资料统计其由定植发展为感染的风险可达 25%^[1]。早产儿各器官功能发育不健全, 生后常需入住 NICU 病房, 因此接触这些耐药微生物、发生定植并引起感染风险大大增加。

[收稿日期] 2013-10-24; [接受日期] 2014-02-18

[基金项目] 四川省科技厅科技支撑计划 (2013SZ0028)。

[作者简介] 滑心恬, 女, 博士, 住院医师。

[通信作者] 唐军, 女, 教授。

益生菌被认为可能在正常菌群建立之前通过多种途径阻止致病菌的增殖，重建定植抗力。因此在早产儿早期喂养的同时给予补充益生菌，理论上可以直接补充肠道所缺乏的正常菌群，减少潜在致病菌定植，降低感染风险。但目前国内外关于益生菌对肠道耐药菌定植的影响相关报道还很少见，本研究旨在通过前瞻性随机双盲试验探讨使用益生菌能否减少NICU中早产儿肠道产ESBL耐药菌的定植，以及相关感染的发生。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2012年7~12月期间于我院产科出生后立即入住NICU病房，72h内开始胃肠内营养，且住院时间超过7d，胎龄<37周的早产儿。排除先天性肠梗阻、肠旋转不良、先天性无肛等消化道畸形，或有腹裂、膈疝、严重脐膨出、严重先天性心脏病病例。

在开始经口或经胃管喂养的同时采取随机数字表法将患儿随机分为试验组和对照组，再以是否母乳喂养进行分层。试验组患儿在开始经胃肠喂养当日开始，混合奶汁经胃管或口服给予金双歧（双歧杆菌乳杆菌三联活菌片，内蒙古双奇药业股份有限公司生产）每次1/2片，一日两次。对照组常规喂养，不使用金双歧。

1.2 观察指标

生后第1、3、7、14天直肠拭子耐药菌筛查结果，晚发性败血症（late onset sepsis, LOS）、感染性肺炎、喂养不耐受、坏死性小肠结肠炎（necrotizing enterocolitis, NEC）、死亡、益生菌相关感染的发生。

1.3 标本采集

所有患儿分别于生后第1、3、7、14天采集直肠拭子，拭子接种法国生物梅里埃公司ESBL显色培养基，最终显色菌落经革兰染色确认是否存在ESBL耐药菌定植。

1.4 统计学分析

应用SPSS 20.0统计软件进行分析。资料用均数±标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）或率（%）表示。计量资料组间比较采用t检验，计数资料组间比较采用 χ^2

检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

共纳入257例患儿，男125例（48.6%），女132例（51.4%）；胎龄 232 ± 13 d。母乳喂养62例，非母乳喂养195例。

试验组119例，其中母乳喂养26例，非母乳喂养93例；对照组纳入138例，其中母乳喂养36例，非母乳喂养102例。

试验组与对照组病例在性别构成、胎龄、单胎妊娠、生产方式、出生体重、宫内感染高危因素、新生儿窒息、是否使用抗生素等方面的差异均无统计学意义，具有可比性，见表1。

2.2 两组直肠耐药菌定植率比较

试验组与对照组患儿比较，第1、3、7、14天直肠耐药菌定植差异均无统计学意义，见表2。

表1 各组患儿一般资料 [$\bar{x} \pm s$ 或 n (%)]

项目	对照组 (n=138)	试验组 (n=119)	$\chi^2(t)$ 值	P 值
男性	65(47.1)	60(50.4)	0.282	0.596
胎龄(d)	232 ± 13	231 ± 14	(-1.178)	0.24
单胎妊娠	84(60.9)	64(53.8)	1.314	0.252
剖宫产	89(64.5)	66(55.5)	2.177	0.14
出生体重(g)	1788 ± 411	1785 ± 456	(-0.06)	0.952
小于胎龄儿	26(18.8)	33(27.7)	2.856	0.091
大于胎龄儿	2(1.4)	0(0)	-	0.501
有宫内感染高危因素	36(26.1)	28(23.5)	0.223	0.636
新生儿窒息	38(27.5)	32(26.9)	0.013	0.908
使用抗生素	73(52.9)	65(54.6)	0.076	0.782

注：有宫内感染高危因素指孕期存在孕母感染、胎膜早破等情况。

表2 两组直肠耐药菌定植率比较 [n (%)]

时间	对照组 (n=138)	试验组 (n=119)	RR	95%CI	χ^2 值	P 值
第1天	5(3.6)	5(4.2)	1.16	0.34~3.91	-	1
第3天	27(19.6)	28(23.5)	1.20	0.753~1.921	0.597	0.440
第7天	93(67.4)	78(65.5)	0.97	0.817~1.158	0.098	0.755
第14天	48(88.9)	41(78.8)	0.89	0.794~1.051	1.984	0.159

注：第14天由于出院等原因共采集标本106例，其中试验组52例，对照组54例。

2.3 两组其他疾病发生率比较

试验组和对照组在 LOS、感染性肺炎、喂养不耐受、NEC 及死亡的发生率的差异均无统计学意义, 见表 3。

2.4 母乳喂养儿耐药菌定植及疾病情况

试验组母乳喂养 26 例, 对照组母乳喂养 36 例, 两组患儿第 1、3、7、14 天直肠耐药菌定植差异无统计学意义, 在 LOS、感染性肺炎、喂养不耐受及死亡的发生率的差异也无统计学意义, 两组

均无 NEC 发生, 见表 4。

2.5 非母乳喂养儿耐药菌定植及疾病情况

试验组非母乳喂养 93 例, 对照组非母乳喂养 102 例, 两组患儿比较, 第 1、3、7 天直肠耐药菌定植差异无统计学意义。第 14 天对照组直肠拭子查见耐药菌明显高于试验组 (88.9% vs. 71.1%, RR 0.80, 95% CI 0.637~1.004, $P=0.04$)。两组患儿在 LOS、感染性肺炎、喂养不耐受、NEC 及死亡的发生率的差异均无统计学意义, 见表 5。

表 3 两组其他疾病发生率的比较 [n (%)]

指标	对照组 (n=138)	试验组 (n=119)	RR	95%CI	χ^2 值	P 值
LOS	8(5.8)	2(1.7)	0.29	0.063~1.339	1.899	0.168
感染性肺炎	36(26.1)	35(29.4)	1.13	0.759~1.674	0.353	0.552
喂养不耐受	21(15.2)	13(10.9)	0.72	0.376~1.371	1.026	0.311
NEC	2(1.4)	0(0)	0.00	-	-	0.501
死亡	3(2.2)	2(1.7)	0.773	0.131~4.549	-	1
益生菌相关感染	0(0)	0(0)	-	-	-	-

表 4 母乳喂养患儿临床指标结果 [n (%)]

指标	对照组 (n=36)	实验组 (n=26)	RR	95%CI	χ^2 值	P 值
直肠耐药菌定植						
第 1 天	0(0)	2(7.7)	0	-	-	0.172
第 3 天	0(0)	2(7.7)	0	-	-	0.172
第 7 天	18(50)	18(69.2)	1.38	0.914~2.097	2.293	0.130
第 14 天	8(22.2)	14(53.8)	2.44	0.958~6.575	2.141	0.143
LOS	2(5.6)	0(0)	0	-	-	0.505
感染性肺炎	14(38.9)	14(53.8)	1.38	0.805~2.382	1.364	0.243
喂养不耐受	6(16.7)	4(15.4)	0.92	0.289~2.945	0	1
NEC	0(0)	0(0)	-	-	-	-
死亡	1(2.8)	0(0)	0	-	-	1

表 5 非母乳喂养患儿临床指标结果 [n (%)]

指标	对照组 (n=102)	试验组 (n=93)	RR	95%CI	χ^2 值	P 值
直肠耐药菌定植						
第 1 天	5(4.9)	3(3.2)	0.66	0.162~2.678	0.052	0.820
第 3 天	27(26.5)	26(28.0)	1.06	0.667~1.672	0.054	0.816
第 7 天	75(73.5)	60(64.5)	0.88	0.725~1.062	1.855	0.173
第 14 天	40(39.2)	27(29.1)	0.73	0.537~1.004	4.212	0.04
LOS	6(5.9)	2(2.2)	0.37	0.076~1.767	0.904	0.342
感染性肺炎	22(21.6)	21(22.6)	1.05	0.618~1.775	0.029	0.865
喂养不耐受	15(14.7)	9(9.7)	0.66	0.303~1.431	1.140	0.286
NEC	2(2.0)	0(0)	0.00	-	-	0.498
死亡	2(2.0)	2(2.2)	1.10	0.158~7.63	0.009	0.926

注: 第 14 天由于出院等原因共采集标本 25 例, 其中试验组 14 例, 对照组 11 例。

注: 第 14 天由于出院等原因共采集标本 83 例, 其中试验组 38 例, 对照组 45 例。

3 讨论

益生菌阻止肠道致病菌定植的可能机制包括竞争性排斥潜在致病菌, 通过增强黏膜 IgA 应答减轻致病菌定植能力, 改善肠道通透性, 增加黏膜抵抗致病屏障等, 需要达到一定的数量才能起到作用^[2-3]。Smith 等^[4]报道了口服罗伊氏乳杆菌

4 d 后才能在粪便中监测到相应菌株。本研究试验组与对照组比较, 第 1、3、7、14 天直肠耐药菌定植均无显著差异, 可能与使用时间短、尚未达到有效剂量, 以及母乳喂养可促进益生菌作用等因素相关。

现存的一些关于益生菌对感染性疾病防治的研究提示, 益生菌可能能够减少院内感染性疾病的发生^[5-7]。但本研究中两组患儿在 LOS 和感染性肺炎的发生率上差异并不具有统计学意义。之前的一些循证医学研究也指出目前的证据并不足以说明益生菌能够减少院内感染性疾病的发生^[7-8], 其作用尚待进一步研究证实。

早产儿由于胃肠功能低下、肠道屏障功能及动力尚不成熟, 易发生呕吐、功能性腹胀、胃食管反流、胃潴留等喂养不耐受表现。益生菌可补充肠道正常菌群, 产生各种消化酶促进消化吸

收,在代谢过程中还能产生有机酸促进肠蠕动和排空,临床研究也证明了益生菌有助于改善早产儿喂养不耐受的发生、缩短达到完全经口喂养所需时间^[5,9]。本研究观察到了相同的趋势,对照组喂养不耐受发生率较试验组有增高趋势(15.2% vs 10.9%),但差异无统计学意义。

早期异常的肠道菌群定植被认为是 NEC 最重要的发病机制之一。近年来有许多临床研究及高质量的循证医学证据指出使用益生菌能够显著降低早产儿严重 NEC 的风险^[7,10-12]。本研究中 2 例 NEC 患儿均发生在对照组中,但阳性结果太少,未观察到统计学差异。

此外,观察时间不够长、药物剂量不足、抗生素的影响以及交叉污染问题也是本研究在耐药菌定植、喂养不耐受、LOS、感染性肺炎等方面未观察到显著差异的可能原因。

本研究未发现与益生菌使用有关的不良反应,与之前的较多大样本研究结果一致,支持了早产儿使用益生菌制剂有较高的安全性^[7,10-11]。但早产儿毕竟是特殊的群体,且个体差异显著,不同益生菌也存在菌株特异性。在没有完全确认其安全性的情况下,针对早产儿的益生菌研究仍需谨慎开展、严密监测、长期随访。

综上,早产儿早期使用益生菌制剂在一定条件下可能减少直肠耐药菌定植,这些条件包括规律摄入足够时间,根据胎龄、出生体重、是否使用抗生素、是否母乳喂养等情况不同,达到一定肠道存活数量等。通过抑制耐药菌定植,益生菌可能对 LOS 等感染性疾病有预防作用,但现存证据尚不足。本研究也观察到早期使用益生菌对早产儿喂养不耐受的发生有一定预防趋势,且进一步证实了益生菌使用的安全性。对于益生菌在早产儿中的使用仍存在许多不确定因素,值得进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] 刘健慧,王丹华. NICU 常见院内感染耐药菌的定植与感染[J]. 新生儿科杂志, 2004, 19(5): 233-236.
- [2] Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, et al. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial[J]. Lancet, 2001, 357(9262): 1076-1079.
- [3] Brand S, Reinecker HC, Sandborn WJ. An enhanced barrier is a better defense: Effects of probiotics on intestinal barrier function[J]. Inflamm Bowel Dis, 2002, 8(1): 67-69.
- [4] Smith TJ, Anderson D, Margolis LM, et al. Persistence of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in the human intestinal tract: response to consecutive and alternate-day supplementation[J]. J Am Coll Nutr, 2011, 30(4): 259-264.
- [5] 乔立兴,唐月华,王伟,等. NICU 内早产儿早期肠道内添加益生菌的临床观察[J]. 中国微生态学杂志, 2012, 24(11): 1011-1013.
- [6] Nair V, Soraisham AS. Probiotics and prebiotics: role in prevention of nosocomial sepsis in preterm infants[J]. Int J Pediatr, 2013, 2013: 874726.
- [7] Wang Q, Dong J, Zhu Y. Probiotic supplement reduces risk of necrotizing enterocolitis and mortality in preterm very low-birth-weight infants: an updated meta-analysis of 20 randomized, controlled trials[J]. J Pediatr Surg, 2012, 47(1): 241-248.
- [8] Deshpande G, Rao S, Patole S, et al. Updated Meta-analysis of Probiotics for Preventing Necrotizing Enterocolitis in Preterm Neonates[J]. Pediatrics, 2010, 125(5): 921-930.
- [9] Indrio F, Riezzo G, Raimondi F, et al. The Effects of Probiotics on Feeding Tolerance, Bowel Habits, and Gastrointestinal Motility in Preterm Newborns[J]. J Pediatr, 2008, 152(6): 801-806.
- [10] AlFaleh K, Anabrees J, Bassler D, et al. Cochrane Review: Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants[J]. Evid Based Child Health, 2012, 7(6): 1807-1854.
- [11] Lin HC, Hsu CH, Chen HL, et al. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight preterm infants: a multicenter, randomized, controlled trial[J]. Pediatrics, 2008, 122(4): 693-700.
- [12] Bin-Nun A, Bromiker R, Wilschanski M, et al. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates[J]. J Pediatr, 2005, 147(2): 192-196.

(本文编辑: 王庆红)