serotonin reuptake transport (SERT) and degradation (MAO-A) gene expression in cultured rat serotonergic neuronal cell lines [J]. Genes & nutrition, 2018(13): 19. doi: 10.1186/s12263-018-0605-7.

[42] ALI A, CUI X, EYLES D. Developmental vitamin D deficiency and autism: putative pathogenic mechanisms [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2018(175): 108-118. doi: 10.1016/j.jsbmb.2016.12.018.

[43] LI J, WANG L, YU P, et al. Vitamin D-related genes are subjected to significant de novo mutation burdens in autism spectrum disorder [J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2017, 174(5): 568-577.

[44] MAZAHERY H, CONLON C A, BECK K L, et al. A randomised controlled trial of vitamin D and omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids in the treatment of irritability and hyperactivity among children with autism spectrum disorder [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2019(187): 9-16. doi: 10.1016/j.jsbmb.2018.10.017.

[45] FENG J, SHAN L, DU L, et al. Clinical improvement following vitamin D_3 supplementation in autism spectrum disorder [J]. Nutr Neurosci, 2017, 20(5): 284-290.

[46] KERLEY C P, POWER C, GALLAGHER L, et al. Lack of effect of vitamin D_3 supplementation in autism: a 20-week, placebo-controlled RCT [J]. Arch Dis Child, 2017, 102(11): 1030-1036.

[47] HAQ A, WIMALAWANSA S J, PLUDOWSKI P, et al. Clinical practice guidelines for vitamin D in the United Arab Emirates [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2018, 175(9): 4-11.

(编辑:杨丹)

(收稿日期:2020-06-23 修回日期:2020-12-16)

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2021.07.002

·论著·

抗菌药物对蒙古族、汉族婴幼儿肠道菌群的影响

武书丽,白玉新,朱华 (内蒙古自治区人民医院,内蒙古呼和浩特 010010)

[摘要]**目的**:研究蒙古族、汉族婴幼儿肠道菌群的动态变化,以及使用抗菌药物后对肠道菌群的影响。**方法**:收集 2016 年 1 月至 2018 年 6 月在内蒙古自治区人民医院出生的母乳喂养婴幼儿,分为蒙古族、汉族健康婴幼儿和蒙古族、汉族生后 2~42 d 曾给予抗菌药物治疗的婴幼儿,分别进行生后 3 h、生后 7 d、生后 42 d 内的粪便培养,采用聚合酶链式反应检测乳酸杆菌和双歧杆菌的数量。**结果**:随着日龄的增加,双歧杆菌和乳酸杆菌在蒙古族、汉族婴幼儿体内均逐渐增加($P<0.05$),其中在生后 7 d、42 d 蒙古族婴幼儿体内的两种菌的增长速度高于汉族婴幼儿($P<0.05$)。而在同日龄的蒙古族和汉族婴幼儿中,乳酸杆菌在未使用抗菌药物和使用抗菌药物后的数量无明显变化($P>0.05$),而双歧杆菌则在使用抗菌药物后减少($P<0.05$)。**结论**:在蒙古族婴幼儿的肠道中乳酸杆菌和双歧杆菌的数量较高,而当使用了抗菌药物后,双歧杆菌的数量明显下降。

[关键词]婴幼儿;肠道菌群;抗菌药物;蒙古族;汉族

[中图分类号]R725.7 [文献标识码]A [文章编号]1672-108X(2021)07-0007-03

Effects of Antibiotics on Intestinal Flora in Infants of Mongolian and Han Nationality

Wu Shuli, Bai Yuxin, Zhu Hua (*Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot Inner Mongolia* 010010, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To study the dynamic changes of intestinal flora in infants of Mongolian and Han nationality, and the effects of antibiotics on intestinal flora. **Methods**: Breast-Fed infants born in Inner Mongolia People's Hospital from Jan. 2016 to Jun. 2018 were collected. All children were divided into the healthy infants of Mongolian and Han nationality and infants who had been treated with antibiotics for 2 to 42 d after birth. Stool cultures were performed within 3 h, 7 d and 42 d after birth. The quantity of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* was detected by polymerase chain reaction (PCR). **Results**: With the increase of age, *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* increased in infants of Mongolian and Han nationality ($P<0.05$). On the 7th and 42nd d after birth, the growth rates of two kinds of bacteria in infants of Mongolian were significantly higher than that in infants of Han nationality ($P<0.05$). In infants of Mongolian and Han nationality of the same age, the number of *Lactobacillus* did not change significantly after the use of antibiotics ($P>0.05$), while *Bifidobacterium* decreased significantly after the use of antibiotics ($P<0.05$). **Conclusion**: The number of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* is higher in the intestine of infants of Mongolian, while the number of *Bifidobacterium* is in a decreasing tendency when antibiotics are used.

[**Keywords**] infants; intestinal flora; antibiotics; Mongolian; Han nationality

基金项目:内蒙古自治区自然科学基金,编号 2017MS(LH)0854。

作者简介:武书丽(1976.06-),女,硕士,主任医师,主要从事儿科疾病研究,E-mail: 2389570362@qq.com。

通讯作者:朱华(1965.04-),女,硕士,教授,主要从事儿科疾病研究,E-mail: zhuhua122@126.com。

肠道微生物菌群与人类健康息息相关,国内外相关研究越来越多,包括糖尿病、肠炎、肠癌、免疫系统疾病、抗菌药物的使用及神经发育等均与肠道微生物密切相关[1-3]。新生儿出生后,肠道微生物与机体的相互作用对健康的肠道发育及免疫稳定具有极其重要的作用[4-5]。研究发现,新生儿在出生时肠道微生物群处于不稳定状态,极易受到各种因素影响而发生改变,而 1 岁后其肠道微生物群逐渐向成人微生物群特征发展,在 3 岁时和成年人相似,并具有较高稳定性[6-7]。抗菌药物现已广泛应用于临床疾病治疗,虽然抗菌药物会对靶微生物有杀灭作用[8],但同时也可能减少肠道有益微生物的定植导致机体肠道微生物区系紊乱,危害婴幼儿肠道健康,导致婴幼儿腹泻或其他疾病[6-7]。本课题通过研究蒙古族、汉族婴幼儿肠道菌群的动态变化,以及使用抗菌药物后对其的影响,旨在研究生命早期肠道微生态的变化,以更好地推动其均衡的模式形成、促进生长发育、降低患病率和保证远期健康。

1　资料和方法

1.1　研究对象

收集 2016 年 1 月至 2018 年 6 月在内蒙古自治区人民医院出生的母乳喂养婴幼儿,分为蒙古族、汉族健康婴幼儿和蒙古族、汉族生后 2 ~ 42 d 曾给予抗菌药物治疗的婴幼儿。

1.1.1　蒙古族、汉族健康新生儿及婴幼儿入组条件　两组母亲均体健,孕期顺利,无妊娠高血压、糖尿病、甲状腺功能异常等疾患,母亲产前 2 周未使用抗菌药物。蒙古族母亲需常为蒙古族聚集地生长,有突出蒙古族生活及饮食习惯。新生儿为足月顺产,严格母乳喂养,出生体质量>2 500 g,生后无窒息,一般状态良好,无腹泻及感染性疾病,未常规使用双歧杆菌类药物。要求采集标本前 2 周无抗菌药物使用史。

1.1.2　蒙古族、汉族曾于生后 2 ~ 42 d 内给予抗菌药物治疗的新生儿及婴幼儿入组条件　两组母亲均体健,孕期顺利,无妊娠高血压、糖尿病、甲状腺功能异常等疾患,母产前 2 周未使用抗菌药物。蒙古族母亲需常为蒙古族聚集地生长,有突出蒙古族生活及饮食习惯。新生儿为足月顺产,严格母乳喂养,出生体质量>2 500 g,于生后 2 ~ 42 d 因上呼吸道细菌感染曾给予头孢类抗菌药物治疗 5 ~ 7 d,未常规使用双歧杆菌类药物。

1.2　粪便中细菌 16SrRNA 的提取

设计定量聚合酶链式反应(PCR)引物及探针(多重定量 PCR),绘制双歧杆菌、乳酸杆菌的标准曲线,进行定量 PCR,用于检测研究。按照天根公司的细菌 16SrRNA 试剂盒说明书提取。

1.3　实时荧光定量 PCR

根据 GeneBank 公布的序列,进行引物设计,乳酸杆菌:上游序列 5'-GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTC-3',下游序列 5'-GGCCAGTTACTACCTCTATCCTTCTTC-3'。双歧杆菌:上游序列 5'-CGCGTCYGGTGTGAAAG-3',下游序列 5'-CCCCACATCCAGCATCCA-3'。所有引物均有上海生工合成。按照全式金公司定量 PCR 的说明书进行操作。95 ℃变性 10 s 后进入循环,95 ℃变性 10 s→56 ℃退火 10 s→72 ℃延伸 60 s,该循环进行 40 次。每组实验都设置阴性对照,每个样本设置 3 个平行的复孔。

1.4　统计学方法

应用 SPSS 软件,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,样本均数间差异用单因素方差分析,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　一般资料

本研究共选取了 120 例患儿,其中蒙古族 60 例(使用抗菌药物 40 例,未使用的 20 例),汉族 60 例(使用抗菌药物 30 例,未使用的 30 例)。汉族患儿 13 例 7 d 内开始使用抗菌药物、17 例 42 d 内开始使用抗菌药物;蒙古族患儿 13 例 7 d 内开始使用抗菌药物、27 例 42 d 内开始使用抗菌药物。抗菌药物组有 26 例新生儿,其中新生儿高胆红素血症 16 例 ,新生儿肺炎 4 例,新生儿败血症 2 例,新生儿缺血缺氧性脑病 1 例,新生儿出血症 1 例,心律失常 1 例,尿路感染 1 例;44 例婴幼中肺炎 26 例,病理性黄疸 14 例,脐炎 4 例。纳入标准:出生 2 ~ 42 d 的婴幼儿,体质量为 2.5 ~ 4.0 kg,出生后没有使用任何微生态制剂,没有腹泻等肠道疾病,其母在分娩前 2 周内没有使用抗菌药物,没有患肠道、生殖道等感染性疾病。分组情况见表 1。

表 1　病例分组情况　例

组别	3 h 内		7 d 内		42 d 内	
	汉族	蒙古族	汉族	蒙古族	汉族	蒙古族
未用抗菌药物	30	20	30	20	30	20
使用抗菌药物	0	0	13	13	17	27

2.2　不同日龄对婴幼儿肠道菌群的影响

随着日龄的增加,双歧杆菌和乳酸杆菌在蒙古族、汉族婴幼儿体内均逐渐增加($P<0.05$)。其中在生后 7 d、生后 42 d 蒙古族新生儿体内的两种菌的增长速度高于汉族儿童($P<0.05$)。而在同日龄的蒙古族和汉族婴幼儿中,乳酸杆菌在未使用抗菌药物和使用抗菌药物后的数量没有明显的变化($P>0.05$),而双歧杆菌则在使用抗菌药物后减少($P<0.05$)。见表 2。

3　讨论

肠道菌群作为正常的微生物存在于肠道中,对人体所需要的各种营养物质提供有利条件,并影响着人体的健康[9-11]。而在肠道菌群中,乳酸杆菌和双歧杆菌是其中较为重要的成员[12],二者可以帮助肠道抵御其他细菌的感染,同时可以促进人体免疫功能的改善,从而防治

多种疾病的发生[5,13]。本研究发现,随着日龄的增加,双歧杆菌和乳酸杆菌在蒙古族、汉族新生儿体内均逐渐增加,从而增强新生儿的免疫力。而在同日龄蒙古族新生儿体内两种菌的增长速度明显高于汉族儿童,蒙古族以奶和肉为主要的食物来源,特别是酸奶中乳酸杆菌的含量高,因此蒙古族新生儿体内双歧杆菌和乳酸杆菌增长速度快。厌氧菌如双歧杆菌、乳酸杆菌,主要寄居在肠道深层,紧贴在肠黏膜表面,形成膜菌群,能阻止表层具有潜在致病性的需氧菌或外来菌直接黏附于肠黏膜细胞;这种黏附作用与肠上皮紧密结合,形成菌膜屏障,可以竞争性抑制肠道中条件致病菌——革兰阴性杆菌,主要是兼性厌氧菌和需氧菌。而一旦正常菌群受抑制,条件致病菌和致病过路菌就会异常增殖,增加肠道菌群失调和细菌耐药、细菌移位,导致新生儿发生严重感染。

表 2　不同日龄蒙古族、汉族婴幼儿肠道菌群数量　　log10 N/g

组别		3 h 内		7 d 内		42 d 内	
		汉族	蒙古族	汉族	蒙古族	汉族	蒙古族
乳酸杆菌	未用抗菌药物组	3.20±0.06	4.60±0.09	3.70±0.06	5.20±0.08*	4.20±0.08	7.40±0.21*
	使用抗菌药物组	-	-	3.30±0.07	4.70±0.09*	4.10±0.10	7.10±0.06*
双歧杆菌	未用抗菌药物组	3.50±0.16	3.70±0.14	5.90±0.11	7.30±0.09*	12.50±0.27	19.80±0.15*
	使用抗菌药物组	-	-	3.40±0.08#	4.20±0.06*#	6.50±0.13#	9.40±0.21*#

注:* 与同日龄汉族儿童比较,$P<0.05$;# 与同组未使用抗菌药物组比较,$P<0.05$

抗菌药物现已广泛应用于临床疾病治疗,它可以预防某些疾病的发生,虽然抗菌药物会对靶微生物有杀灭作用,但同时也可能减少肠道有益微生物的定植导致机体肠道微生物区系紊乱[8,14]。新生儿服用抗菌药物后,对其肠道内的微生物有很大的杀伤作用,因此双歧杆菌在使用抗菌药物后明显降低[15-16]。而在本研究中发现乳酸杆菌的数量没有明显变化,这与先前的研究一致,可能是由于不同种的乳酸杆菌对抗菌药物的敏感度不一样[10],需要进一步研究具体的不同种乳酸杆菌的数量。

总之,本研究发现在蒙古族新生儿的肠道中乳酸杆菌和双歧杆菌的数量较高,而当使用了抗菌药物后,双歧杆菌的数量均明显下降。肠道菌群在机体营养吸收、器官发育、抵抗病原菌入侵以及调节免疫应答等方面具有极其重要的作用,新生儿及婴幼儿时期是机体肠道菌群建立的关键时期,如果婴儿肠道菌群建立的结构合理,代谢平衡,今后该机体免疫系统发育将更加完善,并且患有各类代谢性疾病的风险就相对减小。

参考文献:

[1] CHAO G, YE F, SHEN W, et al. Study on the characteristic of intestinal flora in patients with dual antiplatelet therapy [J]. J Drug Target, 2019(2): 1-8.

[2] HAN C, JIANG Y H, LI W, et al. Study on the antihypertensive mechanism of astragalus membranaceus and salvia miltiorrhiza based on intestinal flora-host metabolism [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019, 2019(5): 418-427.

[3] 马继红, 彭拥军, 孙建华, 等. 基于"肠道菌群-免疫反应"探讨针灸治疗缺血性脑卒中的作用机制[J]. 针刺研究, 2019, 44(7): 538-542.

[4] 祖婷, 王军, 闫俊梅, 等. 高通量测序技术分析喂养不耐受早产儿肠道菌群的动态变化[J]. 儿科药学杂志, 2019, 25(8): 1-4.

[5] 王秋丽, 吕红艳, 李佳红. 不同喂养方式对新生儿肠道菌群定植的影响[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(11): 2506-2509.

[6] 武书丽, 朱华. 分娩方式对新生儿出生后 3 天内肠道菌群的影响[J]. 儿科药学杂志, 2017, 23(12): 4-6.

[7] 阎贝贝, 李晓莺. 新生儿肠道菌群及其相关疾病研究进展[J]. 中国实用儿科杂志, 2018, 33(7): 556-560.

[8] LIU J, AN N, MA C, et al. Correlation analysis of intestinal flora with hypertension [J]. Exp Ther Med, 2018, 16(3): 2325-2330.

[9] 周平乐, 孙彬彬. 不同分娩方式对新生儿肠道菌群的影响[C]. 国际数字医学会数字中医药分会成立大会暨首届数字中医药学术交流会论文集, 2016.

[10] 李诗元, 周娇锐, 刘曼. 母乳糖复合物对新生儿肠道菌群的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2018, 30(5): 603-607.

[11] 陈丽花, 关红琼. 孕期应用抗生素对新生儿肠道菌群建立的影响[J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2017, 26(8): 669-672.

[12] XIA Y G, WANG T L, YU S M, et al. Structural characteristics and hepatoprotective potential of Aralia elata root bark polysaccharides and their effects on SCFAs produced by intestinal flora metabolism [J]. Carbohydr Polym, 2019, 207(2): 56-65.

[13] 邵华丽. 头孢噻肟钠对新生儿肠道菌群的影响[D]. 浙江大学, 2015.

[14] GAO Y, BI W, WU X, et al. Bacterial resistance influences intestinal flora and host immune regulation [J]. Chinese journal of biotechnology, 2018, 34(8): 1259-1269.

[15] XI Y, SHULING N, KUNYUAN T, et al. Characteristics of the intestinal flora of specific pathogen free chickens with age [J]. Microb Pathog, 2019, 132(3): 25-34.

[16] 徐豪, 王云凤, 司沛茹, 等. 新生儿病区多重耐药菌分布及耐药性分析[J]. 儿科药学杂志, 2018, 24(5): 39-42.

(编辑:杨丹)

(收稿日期:2020-03-17　修回日期:2020-04-26)

《儿科药学杂志》投稿网址:http://www.ekyxzz.com.cn。