

中医药对小儿急性非细菌感染性腹泻病的疗效及肠道微生态的影响※

● 胡小英^{1*} 许 华^{1▲} 陈晓刚¹ 刘 华¹ 张媛媛¹ 丘小汕² 肖达民³ 潘瑞芳⁴ 黄 蓓¹

摘 要 观察中医药疗法对小儿急性非细菌感染性腹泻病的疗效及肠道微生态的影响。方法:采用前瞻性多中心随机对照临床研究方法,将 359 例急性非细菌性腹泻病患儿分为试验 A 组、试验 B 组、对照组,分别采用中药汤剂、中药汤剂+小儿推拿、蒙脱石散(思密达)进行治疗,疗程 3 天。在治疗前、后进行疗效评价及应用实时荧光定量 PCR 法对粪便标本中双歧杆菌、大肠杆菌、乳酸菌的数量进行检测。结果:试验 A 组、试验 B 组的疗效均优于对照组($P < 0.05$),试验 A 组、试验 B 组组间无差异($P > 0.05$)。肠道微生态方面,除乳酸菌数量治疗后三组间及试验 B 组与对照组组间差异存在统计学意义($P < 0.05$)外,其余乳酸菌、双歧杆菌、大肠杆菌数量治疗前后组内及治疗后组间比较均无统计学意义($P > 0.05$);乳酸菌/大肠杆菌比值、双歧杆菌/大肠杆菌比值治疗后组间比较均无统计学意义($P > 0.05$)。结论:中医药疗法对小儿急性非细菌感染性腹泻病具有良好的治疗作用,其短期内对肠道双歧杆菌、大肠杆菌、乳酸菌数量影响不明显。

关键词 泄泻 腹泻 中医药疗法 儿童 肠道微生态

腹泻病是小儿常见的消化系统疾病,尤以婴幼儿发病率最高,并以非细菌感染性腹泻为主,该病是造成小儿营养不良、生长发育障碍和死亡的主要原因之一^[1]。本课题组进行了中医药疗法对小儿急性非细菌感染性腹泻病的疗效及肠道微生态观察,现报告如下。

1 资料

1.1 临床资料 病例来源于 2007 年 9 月~2010 年 12 月广州中医药大学第一附属医院、广州市儿童医院、中山大学附属第一医院、广州市中医院诊治的 6 个月~3 岁急性非细菌感染性腹泻病患儿共 359 例。

※基金项目 国家“十一五”科技支撑计划中医治疗常见病项目(No:2007BA120B024)

*作者简介 胡小英,女,副主任医师,副教授,医学硕士,硕士研究生导师。研究方向:小儿消化系统疾病及肠道微生态。

▲通讯作者 许华,主任医师,教授。E-mail:xuhua212@126.com。

●作者单位 1. 广州中医药大学第一附属医院儿科(510405); 2. 中山大学附属第一医院(510080); 3. 广东省广州市中医医院(510130) 4. 广东省广州市儿童医院(510120)

采用前瞻性随机对照临床试验;采用中心随机化分配系统进行随机分组,分为试验 A 组、试验 B 组、对照组三组;数据库收集处理及统计分析均由第三方执行。其中,试验 A 组入组 119 例,脱落 2 例,剔除 2 例;试验 B 组入组 116 例,脱落 5 例,剔除 0 例;对照组入组 124 例,脱落 2 例,剔除 3 例。共 351 例纳入 FAS 集分析,345 例纳入 PPS 集分析,359 例纳入 SS 集分析。其中,三组病例的脱落剔除率分别为 3.36%、4.31%、4.03%,年龄(岁)分别是 1.15 ± 0.58 、 1.24 ± 0.67 、 1.13 ± 0.64 ,性别(男/女)比例分别是 82/34、81/34、71/49,体重(KG)分别是 9.84 ± 1.77 、 10.09 ± 1.93 、 9.5 ± 1.82 ,体温($^{\circ}\text{C}$)分别是 37.02 ± 0.7 、 36.92 ± 0.67 、 37 ± 0.77 ,呼吸(次/分)分别是 28.54 ± 4.24 、 28.21 ± 4.25 、 29.23 ± 4.66 ,静息心率(次/分)分别是 114.91 ± 10.49 、 114.08 ± 9.29 、 116.49 ± 10.34 ,病情(轻/中)例数比例分别是 113/2、110/1、116/3,病程(天)分别是 2.36 ± 2.21 、 2.59 ± 2.21 、 2.55 ± 2.41 ,中医证候分布(湿热证/伤食证/风寒证/脾虚证)例数比例分别是 72/14/19/10、73/13/13/12、71/16/19/13,依从性(好/差)分别是 115/0、110/1、119/0。三组病

例的脱落剔除率、人口学特征(年龄、性别构成、体重)、治疗前生命体征(体温、呼吸、静息心率)、病情分级、病程、中医证候分布、依从性、治疗前粪便标本中双歧杆菌和大肠杆菌及乳酸菌的数量(详见表2)、治疗前乳酸菌/大肠杆菌比值和双歧杆菌/大肠杆菌比值(详见表3)等方面,经检验,组间差异均无统计学意义($P>0.05$),故三组具有可比性。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 参照中华人民共和国卫生部颁发的《中国腹泻病诊断治疗方案》^[2]实施。

1.2.2 中医诊断及证型诊断标准 参照普通高等教育“十五”国家级规划教材《中医儿科学》^[3]及《中药新药临床研究指导原则》^[4]中泄泻诊断标准拟定,分为湿热证、伤食证、风寒证、脾虚证。

1.3 纳入标准 (1)符合中西医诊断标准、病情为轻中型者;(2)符合中医证型诊断标准者;(3)年龄为出生后6个月至3岁(含3岁);(4)轮状病毒肠炎病程在3d之内者(含3d);(5)患儿法律监护人签署知情同意书,同意纳入本研究。

1.4 排除标准 (1)细菌感染性腹泻;(2)合并心脑血管、肝肾及造血系统等严重威胁生命的原发疾病、原发性免疫缺陷疾病及精神、神经疾病患儿;(3)有重度脱水或严重中毒症状者。

2 方法

2.1 治疗方法 试验A组:口服中药汤剂(运脾化湿方辨证加味)+基础治疗。试验B组:口服中药汤剂(运脾化湿方辨证加味)+小儿推拿疗法+基础治疗。对照组:口服蒙脱石散(商品名:思密达,博福-益普生(天津)制药有限公司)+基础治疗。

2.1.1 中药处方 运脾化湿方:陈皮5g,苍术8g,厚朴8g,茯苓10g,山楂炭10g,甘草4g。湿热证:运脾化湿方+葛根15g,黄芩10g,黄连5g,火炭母15g,鸡蛋花15g。伤食证:运脾化湿方+神曲10g,连翘10g,半夏10g,车前子10g,火炭母15g,鸡蛋花15g。风寒证:运脾化湿方+藿香10g,大腹皮10g,紫苏10g,半夏10g,神曲10g,泽泻10g。脾虚证:运脾化湿方+太子参10g,白术10g,木香5g,炒内金10g,炒扁豆15g。

所有药物由课题负责单位广州中医药大学第一附属医院统一购买、配制,中药煎剂由广州中医药大学第一附属医院制剂室制备,用ZKJ-1A10型智控煎药机(韩国和印株式会社)煎煮至150ml,真空无菌包装,由专人配送到各研究单位,各参加单位均指派专

人负责药物分配及管理。

服法:6个月~1岁:每次30ml,每日3次;1~2岁,每次40ml,每日3次;1~3岁:每次50ml,每日3次;将汤药取出复温后口服。

2.1.2 小儿推拿疗法 湿热证、伤食证、风寒证为实证采用实证小儿推拿手法;脾虚证为虚证采用虚证小儿推拿手法。

2.1.3 蒙脱石散服法 6个月~1岁,每次1g(1/3包),每天3次;1~2岁,每次1.5g(1/2包),每天3次;1~3岁,每次2g(2/3包),每天3次。

2.1.4 基础治疗 包括饮食指导及合理补液。

2.1.5 疗程 3天。

2.2 观察指标 肠道微生态检测分析:分别于治疗前、后采用基于Taqman技术的实时荧光定量PCR法^[5,6],对所有病例儿童粪便标本中的肠道双歧杆菌,大肠杆菌和乳酸菌DNA进行荧光定量(以每g湿粪中杆菌DNA拷贝数的对数值表示),比较各组治疗前、后及组间肠道双歧杆菌、大肠杆菌和乳酸菌数量的变化。

2.3 疗效判定标准 参照全国腹泻病防治学术研讨会组织委员会制定的《腹泻病疗效判断标准及补充建议》^[7]的疗效判定标准制定。

2.4 统计学方法 采用SPSS12.0统计软件处理。组间采用wilcoxon检验、fisher精确检验或方差分析,组内差异采用配对T检验或秩和符号检验分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 疗效分析 FAS分析与PPS分析结果一致。

试验A组有30.17%的病例疗效为显效、68.97%有效,试验B组34.78%显效、65.22%有效,对照组14.17%显效、85.83%有效,显效率三组间比较 $P=0.0004<0.05$,差异存在统计学意义;试验A组与对照组比较 $P=0.0059$ 、试验B组与对照组比较 $P=0.0002$ 均 <0.05 ,差异存在统计学意义;试验A组与试验B组比较 $P=0.3831>0.05$,差异无统计学意义。见表1。

表1 疗效分析(PPS)(n·%)

	试验A组	试验B组	对照组
显效	35(30.17)	40(34.78)	17(14.17) ** Δ
有效	80(68.97)	75(65.22)	103(85.83)
无效	1(0.86)	0(0.00)	0(0.00)
合计	116	115	120

注: * 三组间比较, $P<0.05$; # 试验A组与对照组比较, $P<0.05$; Δ 试验B组与对照组比较, $P<0.05$ 。

3.2 肠道微生态分析 FAS 分析与 PPS 分析结果一致。

3.2.1 治疗前后组内双歧杆菌、大肠杆菌、乳酸菌数量的比较 见表 2。

3.2.1.1 试验 A 组 双歧杆菌 $P=0.3843>0.05$ ；大肠杆菌 $P=0.0719>0.05$ ；乳酸菌 $P=0.5024>0.05$ ，差异均无统计学意义。

3.2.1.2 试验 B 组 双歧杆菌 $P=0.6628>0.05$ ；大肠杆菌 $P=0.3639>0.05$ ；乳酸菌 $P=0.2230>0.05$ ，差异均无统计学意义。

3.2.1.3 对照组 双歧杆菌 $P=0.6268>0.05$ ；大肠杆菌 $P=0.5434>0.05$ ；乳酸菌 $P=0.2286>0.05$ ，差异均无统计学意义。

3.2.2 治疗后组间双歧杆菌、大肠杆菌、乳酸菌数量

的比较 见表 2。

3.2.2.1 试验 A 组与试验 B 组比较 双歧杆菌 $P=0.9891>0.05$ ；大肠杆菌 $P=0.6365>0.05$ ；乳酸菌 $P=0.5781>0.05$ ，差异均无统计学意义。

3.2.2.2 试验 A 组与对照组比较 双歧杆菌 $P=0.0921>0.05$ ；大肠杆菌 $P=0.4827>0.05$ ；乳酸菌 $P=0.0572>0.05$ ，差异均无统计学意义。

3.2.2.3 试验 B 组与对照组比较 双歧杆菌 $P=0.0892>0.05$ ；大肠杆菌 $P=0.8114>0.05$ ，差异均无统计学意义。乳酸菌 $P=0.0164<0.05$ ，差异存在统计学意义。

3.2.2.4 三组间比较 双歧杆菌 $P=0.1496>0.05$ ；大肠杆菌 $P=0.7767>0.05$ ，差异均无统计学意义。乳酸菌 $P=0.0310<0.05$ ，差异存在统计学意义。

表 2 三组治疗前后粪便标本中双歧杆菌、大肠杆菌和乳酸菌比较表 (PPS)
(log 拷贝数/克湿粪, $\bar{x} \pm s$)

组别	n		双歧杆菌	大肠杆菌	乳酸菌
试验 A 组	116	治疗前	7.39 ± 1.61	8.45 ± 1.37	8.21 ± 1.23
		治疗后	6.6 ± 1.81	8.22 ± 1.5	7.92 ± 1.2
试验 B 组	115	治疗前	7.34 ± 1.8	8.31 ± 1.6	7.83 ± 1.38
		治疗后	6.87 ± 1.96	8.03 ± 1.69	8.1 ± 1.04
对照组	120	治疗前	6.79 ± 1.9	7.69 ± 1.96	7.89 ± 1.33
		治疗后	5.75 ± 2.27	7.93 ± 1.76	7.31 ± 1.38 ^{*#}

注：* 试验 B 组与对照组比较, $P<0.05$ ；# 三组间比较, $P<0.05$ 。

3.2.3 乳酸菌/大肠杆菌比值分析 治疗后试验 A 组与试验 B 组比较 $P=0.3107>0.05$ ；试验 A 组与对照组比较 $P=0.6603>0.05$ ；试验 B 组与对照组比较 $P=0.1800>0.05$ ；三组间比较 $P=0.3404>0.05$ ，差异均无统计学意义。见表 3。

3.2.4 双歧杆菌/大肠杆菌比值分析 治疗后试验 A 组与试验 B 组比较 $P=0.3945>0.05$ ；试验 A 组与对照组比较 $P=0.2994>0.05$ ；试验 B 组与对照组比较 $P=0.1267>0.05$ ；三组间比较 $P=0.2533>0.05$ ，差异均无统计学意义。见表 3。

表 3 三组治疗后粪便标本中乳酸菌与大肠杆菌、双歧杆菌与大肠杆菌比值分析 (PPS) ($\bar{x} \pm s$)

组别	n		乳酸菌/ 大肠杆菌	双歧杆菌/ 大肠杆菌
试验 A 组	116	治疗前	0.98 ± 0.2	0.89 ± 0.22
		治疗后	0.99 ± 0.2	0.79 ± 0.23
试验 B 组	115	治疗前	0.97 ± 0.22	0.87 ± 0.24
		治疗后	1.05 ± 0.24	0.82 ± 0.24
对照组	120	治疗前	1.07 ± 0.3	0.89 ± 0.3
		治疗后	0.96 ± 0.19	0.72 ± 0.3

注：各组治疗后比较, 均 $P>0.05$

4 讨论

小儿非细菌感染性腹泻病属中医“泄泻”范畴。中医药治疗小儿泄泻病积累了丰富的经验, 内治法有辨证论治、基本方加减以及专病专药临床研究^[8-10]；外治以针灸、穴位注射、敷贴、推拿等以及内服外治疗法的研究等^[11-14]，临床报道取得良好效果。本课题组长期致力于小儿脾胃病的研究, 对中医药治疗小儿泄泻进行了多方位的观察与总结, 认为脾虚湿盛是小儿泄泻的病机关键, 总结出以运脾化湿为主法、辨证治疗小儿泄泻的中医药治疗方案。方案中内治法采用运脾化湿方辨证加味, 本方重用苍术运脾燥湿, 宣阳化浊；茯苓健脾利湿, 二者相合, 相辅相成, 脾气健运则水湿自除；配以陈皮、厚朴芳香化湿、调理气机；陈皮与苍术相合, 复中焦脾胃运化升降之职；厚朴与苍术合用, 苍术燥湿为主, 厚朴行气为辅, 二药相须为用, 化湿浊, 健脾胃, 升脾气, 降胃气, 相得益彰, 合奏运脾化湿、行气和胃之功。再辅以山楂炭酸敛止泻, 使湿浊化而脾运复健, 升降调而清浊得分, 达到止泻之效。外治法为配合虚实辨证推拿手法。经临床观

察证实本中医药疗法对小儿急性非细菌感染性腹泻病具有良好的治疗作用,疗效优于蒙脱石散对照组。

近年来,对小儿腹泻病微生态研究发现,微生态失衡在腹泻病发病机理中起重要作用^[15-17],腹泻患儿肠内微生态系统存在严重失衡,而滥用抗生素将使肠内菌群紊乱,进一步破坏肠道微生态平衡。本组分别在治疗前、后进行应用实时荧光定量 PCR 法对病例粪便标本中双歧杆菌、大肠杆菌、乳酸菌的数量进行检测及比对,结果显示除乳酸菌数量治疗后三组间及试验 B 组与对照组组间差异存在统计学意义($P < 0.05$)外,其余乳酸菌、双歧杆菌、大肠杆菌数量治疗前后组内及治疗后组间比较、乳酸菌/大肠杆菌比值及双歧杆菌/大肠杆菌比值治疗后组间比较均无差异。本组研究说明口服中药、小儿推拿、口服西药思密达对患儿肠道双歧杆菌、大肠杆菌、乳酸菌的早期恢复影响均不明显,可能中医药、西药治疗在短期内均无法纠正小儿急性非细菌感染性腹泻病的肠道菌群失衡。提示患儿临床早期恢复可能存在其他作用机制靶点。此外也可能与本研究标本采集节点过早,以及单纯进行个别菌种的检测并不能完整准确地反映肠道整体微生物群落的情况等有关。

近来,国外学者提出了以序列分析为基础的宏基因组学(metagenomics)方法,所谓宏基因组,是指自然环境中全部微生物基因组的总和,借助于新一代测序技术,在大规模基因序列分析的基础上,结合生物信息学工具,实现对宏基因组中相关基因的定量分析和功能预测,这被认为是微生物研究的革命性突破^[18],将为本研究的进一步深入提供了更好的方法。

参考文献

- [1] 中华医学会儿科分会消化组. 儿童腹泻病诊断治疗原则的专家共识[J]. 中华儿科杂志, 2009, 47(8): 634-636.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 中国腹泻病诊断治疗方案[J]. 中国实用儿科杂志, 1998, 13(6): 381-384.
- [3] 汪受传. 中医儿科学[M]. 北京: 中国中医药出版社. 2002: 102-104.
- [4] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[M]. 北京: 中国医药科学技术出版社, 1993: 126-127.
- [5] Weinberger KM, Wiedenmann E, Bohm S, et al. Sensitive and accurate quantitation of hepatitis B virus DNA using a kinetic fluorescence detection system (Taq Man PCR) [J]. J Virol Methods, 2000, 85(1-2): 75.
- [6] Eun AJ, Seoh M, Wong S, et al. Simultaneous quantitation of two orchid viruses by the TaqMan real-time RT-PCR[J]. J Virol Methods, 2000, 85(1-2): 151.
- [7] 方鹤松, 魏承毓. 腹泻病疗效判断标准及补充建议[J]. 中国实用儿科杂志, 1998, 13(6): 384.
- [8] 王庆荣, 崔艳华. 中医辨证治疗小儿泄泻[J]. 中华实用中西医结合杂志, 2005, 16(18): 723.
- [9] 林外丽. 五苓散加味治疗婴儿泄泻疗效观察[J]. 辽宁中医杂志, 2004, 31(7): 582.
- [10] 许华, 曾繁冬, 罗笑容. 苍苓散治疗婴幼儿轮状病毒肠炎的临床研究[J]. 中药新药与临床药理, 1997, 8(3): 142-143.
- [11] 余华, 张安仁, 张月娥. 麦粒灸治疗脾虚泄泻证的临床研究[J]. 中国针灸, 2001, 21(3): 131-134.
- [12] 刘保罗, 余苏平. 脐疗治疗婴幼儿泄泻 478 例临床总结[J]. 成都中医药大学学报, 2000, 23(3): 25-26.
- [13] 焦平, 王艳君, 郭登洲. 推拿治疗伤食型婴幼儿泄泻 370 例的临床疗效观察[J]. 河北中医药学报, 2005, 20(3): 26-28.
- [14] 谢康禧, 冯艳珍, 谢少波. 参苓白术散加减结合捏脊治疗婴幼儿泄泻的临床观察[J]. 实用中西医结合杂志, 2005, 5(4): 32-33.
- [15] Zhang M, Zhang M, Zhang C, et al. Pattern extraction of structural responses of gut microbiota to rotavirus infection via multivariate statistical analysis of clone library data[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2009, 70(2): 21-29.
- [16] Guandalini S. Probiotics for prevention and treatment of diarrhea[J]. J Clin Gastroenterol. 2011, 45(Suppl): S149-153.
- [17] Grandy G, Medina M, Soria R, et al. Probiotics in the treatment of acute rotavirus diarrhoea. A randomized, double-blind, controlled trial using two different probiotic preparations in Bolivian children[J]. BMC Infect Dis, 2010, 10: 253.
- [18] Human Microbiome Jumpstart Reference Strains Consortium. A catalog of reference genomes from the human microbiome[J]. Science, 2010, 328(5981): 994-999.

悦读《中医药通报》,与大师交流终身受益。

欢迎订阅(邮发代号:34-95)