

脓毒症患者肠道菌群与肠屏障功能紊乱的相关性研究

杨小娟^{1,2} 杨晓军^{1,3} 刘丹⁴ 彭彬彬²

¹宁夏医科大学总医院,重症医学科,宁夏银川 750004; ²宁夏医科大学,临床医学院,银川 750004; ³宁夏神经系统疾病诊疗工程技术研究中心,银川 750004; ⁴十堰市太和医院 湖北医药学院附属太和医院重症医学科,湖北十堰 442000

通信作者:杨晓军, Email: yxjicu@163.com

【摘要】目的 探讨脓毒症患者肠道菌群紊乱与肠道屏障功能障碍之间的关系。**方法** 采用前瞻性对比研究方法,纳入 2017 年 2 月至 2017 年 6 月住宁夏医科大学总医院重症医学科的脓毒症患者 10 例,同期入住且未并发脓毒症的患者 10 例,健康人 10 例,依次分组为脓毒症组、非脓毒症组、健康对照组。①记录一般资料。②运用 16S rRNA 基因测序技术对 3 组实验对象粪便标本进行菌群检测分析。③采集脓毒症组及非脓毒症组患者静脉血并运用酶法测定血 D-乳酸、细菌内毒素水平。④相关性分析得出 D-乳酸、细菌内毒素水平同脓毒症患者肠道菌群菌门水平之间的关系。**结果** ①脓毒症患者临床感染致病菌与肠道致病菌属变化一致性的观察分析:脓毒症患者痰培养为鲍曼不动杆菌(对应患者编号为 S5、S6、S8)、嗜麦芽窄食单胞菌(对应患者编号为 S6、S7)、肠球菌属(对应患者编号为 S7),在对应患者肠道菌群中已有相应菌属 OUT 丰度升高。脓毒症患者(对应患者编号为 S7)血培养为大肠杆菌,该患者肠道菌群中埃希氏菌属 OUT 丰度升高。②血 D-乳酸及细菌内毒素水平与肠道菌群相关性分析:非脓毒症组和脓毒症组患者血 D-乳酸水平与肠道菌群中厚壁菌门比例呈负相关、变形菌门比例呈正相关(r 值分别为: -0.532、0.468, 均 $P < 0.05$)。**结论** 脓毒症患者紊乱的肠道菌群同肠屏障功能障碍存在相关性。脓毒症患者临床感染致病菌与肠道致病菌属扩张具有潜在一致性。

【关键词】 脓毒症、肠道菌群紊乱、肠道屏障功能、D-乳酸、内毒素

基金资助:宁夏回族自治区重点研发计划科技支撑项目(2020BEG03054),大学生创新创业训练计划项目(G202110752007)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2022.02.013

Relationship between intestinal flora and intestinal barrier dysfunction in patients with sepsis

Yang Xiaojuan^{1,2}, Yang Xiao-Jun^{1,3}, Liu Dan⁴, Peng Bingbing²

¹Department of Critical Care Medicine, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; ²School of Clinical Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China;

³Engineering Research Center for Diagnosis and Treatment of Ningxia Nervous System Diseases, Yinchuan 750004, China; ⁴Department of Critical Care Medicine, Taihe Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China

Corresponding author: Yang XiaoJun, Email: yxjicu@163.com

【Abstract】Objective To explore the relationship between intestinal flora disorder and intestinal barrier dysfunction in patients with sepsis. **Methods** A prospective observational study was conducted to include 10 patients with sepsis (sepsis group) admitted to the ICU of General Hospital of Ningxia Medical University from February 2017 to June 2017, 10 normal postoperative patients (non-sepsis group) admitted to the ICU of General Hospital of Ningxia Medical University in the same period, and 10 healthy persons (control group) were served as controls. General information was recorded. Fecal samples of the

three groups of experimental subjects were detected and analyzed by using 16S rRNA gene sequencing technology. The venous blood of the sepsis and non-sepsis groups were collected and the levels of D-lactic acid and bacterial endotoxin in were measured by enzymatic method at the corresponding time points. The correlation between the levels of D-lactic acid and bacterial endotoxin and intestinal flora of patients with sepsis was analyzed. **Results** The change consistency of pathogenic bacteria between clinical infection and intestinal pathogenic bacteria in patients with sepsis was observed and analyzed. Sputum culture of patients with sepsis was *Acinetobacter baumannii* (corresponding patient number: S5, S6, S8), *Stenotrophomonas maltophilia* (corresponding patient number: S6, S7), and *Enterococcus* (corresponding patient number: S7). In the intestinal flora of corresponding patients, the OUT abundance were increased. Patients with sepsis (corresponding patient number S7) showed *E. coli* in blood culture, and in his intestinal flora the OUT abundance was increased. Correlation analysis showed that the serum D-lactic acid level was negatively correlated with the proportion of Firmicutes in intestinal flora in the non-sepsis and sepsis groups, while was positively correlated with the proportion of Firmicutes (r value: -0.532, 0.468, respectively, $P < 0.05$). **Conclusions** The gut microbiota dysbiosis is correlated with intestinal barrier function in sepsis patients with sepsis. The spread of pathogenic bacteria between clinical infection and intestinal bacteria in sepsis patients has potential consistency.

【 Key words 】 Sepsis; Intestinal flora disturbance; Intestinal barrier function; D-lactic acid; Endotoxin

Foundation: Science and Technology Support Project of Ningxia Hui Autonomous Region Key R & D Program (2020BEG03054), College Students Innovation and Entrepreneurship Training Program (G202110752007)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2022.02.013

脓毒症 (sepsis) 是重症监护室的常见病、多发病,它是机体对感染的反应失调而导致危及生命的器官功能障碍^[4]。肠道被视作是脓毒症、多器官功能障碍 (MODS) 的“发动机”,脓症患者肠道屏障功能障碍和肠道菌群紊乱在脓毒症的发生发展中起着至关重要的作用^[1],这方面的研究对脓毒症的诊疗具有重大意义。同时,相较于传统的细菌培养技术,现代高通量 16S rRNA 基因测序技术可以更全面了解肠道菌群结构,是目前人体肠道菌群分析的标准技术^[2]。而肠道黏膜损伤的分子标志物中,血 D-乳酸和细菌内毒素水平是可靠指标^[3]。因此,本研究运用高通量 16S rRNA 基因测序技术对脓症患者进行粪便菌群检测、JY-DLT 肠道屏障功能生化指标分析,系统评估脓症患者肠道菌群紊乱特点及肠屏障功能障碍,旨在初步探讨肠道菌群紊乱与肠屏障功能障碍之间是否存在联系,并观察临床感染致病菌与肠道菌群中相应致病菌属变化是否存在一致性,从而为改善脓症患者肠道微生态紊乱提供临床指导。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用前瞻性观察性研究方法,纳入 2017 年 2

月至 2017 年 6 月收住宁夏医科大学总医院重症医学科 (ICU) 的脓症患者 10 例 (脓毒症组)、同期入住宁夏医科大学总医院 ICU 且未并发脓毒症的患者 10 例 (非脓毒症组),并选取本地健康人 10 例 (对照组) 作为对照。所有患者纳入标准:①年龄 18~75 周岁;②脓症患者符合 2016 年美国重症医学会脓毒症的最新定义“Sepsis-3.0”^[4];③预计入组后住 ICU 时间大于 2 d。排除标准:①不符合纳入标准;②肛周感染者;③肠造瘘患者;④慢性胃肠道疾病患者。健康对照组要求:①与前两组患者年龄层次匹配;②身体健康,无慢性疾病及代谢性疾病史 (如高血压、冠心病、糖尿病、肝炎、甲亢等);③无消化道疾病及消化道手术史;④入组前 3 月内未使用过抗生素、益生菌制剂、肠道营养制剂及其他药物。本研究获得患者或直系亲属的知情同意并经医院伦理委员会批准 (伦理审批号:2016-258)。

1.2 观察指标

记录脓毒症组和非脓毒症组患者的一般临床资料,包括年龄、急性生理和慢性健康 (APACHE II) 评分、序贯器官衰竭 (SOFA) 评分、主要诊断、手术类型 (腹腔脏器手术和非腹腔脏器手术)、临床感染部位、致病菌 (定性培养)、抗生素使用情况 (表 1~3)。

表 1 三组个体一般资料比较

Table1 Comparison of the general information among the three groups

基础资料	健康对照组 (n = 10)	非脓毒症组 (n = 10)	脓毒症组 (n = 10)	H/F/ χ^2 /Z/t 值	P 值
年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	55 (48.75, 55.25)	59 (50.00, 74.00) ^a	63.50 (44.75, 76.25) ^{ab}	2.05	0.36
BMI (kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)	23.95 \pm 2.04	27.19 \pm 4.40 ^a	23.91 \pm 4.09 ^{ab}	2.64	0.09
基础疾病 (例)				0.84	0.65
多发伤		3	4		
恶性肿瘤		5	3		
其他		2	3		
手术种类 (例)				0.00	1.00
腹部外科手术	-	5	5		
非腹部手术	-	5	5		
APACHE II 评分 ($M [P_{25}, P_{75}]$)	-	10.00 (7.00, 17.00)	19.00 (15.25, 21.50)	-2.40	0.02
SOFA 评分 ($\bar{x} \pm s$)	-	3.30 \pm 1.42	10.80 \pm 2.97	-7.20	0.00

注: APACHE II 评分: 急性生理评估、慢性健康评估评分系统; SOFA 评分: 序贯器官功能衰竭评估评分; BMI: 身体质量指数

表 2 脓毒症组患者感染相关临床资料

Table2 General clinical information of the patients in the sepsis group

患者编号	原发感染部位	手术部位	入 ICU 7 d 内抗生素使用类别
S1	肺部	-	广谱青霉素类
S2	腹腔	空腔脏器	碳青霉烯类 + 糖肽类
S3	肺部	空腔脏器	碳青霉烯类 + 恶唑烷酮类
S4	肺部	骨关节	广谱青霉素类 + 碳青霉烯类
S5	腹部	空腔脏器	广谱青霉素类 + 糖肽类
S6	肺部	-	广谱青霉素类 + 四环素类
S7	肺部	-	碳青霉烯类 + 广谱青霉素类
S8	腹腔	-	碳青霉烯类
S9	腹腔	空腔脏器	碳青霉烯类
S10	腹腔	空腔脏器	碳青霉烯类 + 糖肽类

注: Sn 代表脓毒症组中编号为 n 的脓毒症患者, 例如 S1 表示 1 号脓毒症患者

表 3 脓毒症组临床致病菌资料

Table2 Pathogenic bacteria isolated in the sepsis group

致病菌	培养标本	患者编号	对应标本采集时间 (入住 ICU 后第 n 天)
鲍曼不动杆菌	痰	S5、S6、S8	4、13、23
嗜麦芽窄食单胞菌	痰	S6、S7	1、8
肠球菌属	痰	S7	23
大肠埃希菌	血	S7	1

注: Sn 代表脓毒症组中编号为 n 的脓毒症患者, 例如 S5 表示 5 号脓毒症患者

1.3 检测方法

粪便样品收集及测序: 采集脓毒症组患者及非脓毒症组患者入 ICU 后第 1 天的粪便标本, 以及健康对照组的粪便样本。脓症患者及非脓毒症组患者入 ICU 后第 1 天自主排便或灌肠后, 用采样勺从患者新鲜粪便深处取材, 迅速将粪便标本置于专用粪便标本盒内, 健康对照组为受试者正常排便后采集到专用粪便标本盒内, 然后将装有样品的小粪盒封装、贴上标签

后置于液氮罐中, 并转移至 -80℃ 的冰箱内冻存。每个粪便样品加 790 μ L 的裂解液 (4 mol/L guanidine thiocyanate, 250 μ L; 10% N-lauroyl sarcosine, 40 μ L; 5% N-lauroyl sarcosine-0.1 mol/L phosphate buffer [pH 8.0], 500 μ L), 剧烈涡旋后 70℃ 下孵育 1h; 孵育结束后加入玻璃珠 (0.1 mm, 500~750 μ L) 混合, 击打 10min (25HZ/S); 后续提取按照抽提试剂盒的说明书进行 (E.Z.N.A.® Stool DNA Kit)。利用 NanoDrop (Thermo Scientific) 对提取的 DNA 浓度进行测定。通过引物 338F/806R 对 16SrRNA 基因的 V3-V4 区进行扩增, 并利用 Illumina Miseq 2 \times 300 bp 的平台对 PCR 产物完成测序。原始测序数据和相关信息可在序列号为 PRJNA691455 的 Sequence Read Archive 数据库中获得。

D-乳酸、细菌内毒素检测: 采脓毒症组患者入 ICU 后第 1 天外周静脉血, 每次 3 mL 于肝素锂抗凝采血管中, 并于采血后 0.5 h 内利用 JY-DLT 肠道屏障功能生化指标分析系统进行血清 D-乳酸 (D-Lac)、细菌内毒素 (Endotoxin) 水平检测 (检测试剂来源: 中国北京中生金域诊断技术股份有限公司)。检测流程如下: ①开机预热 30 min, 用肝素锂试采血管采集 3 mL 静脉血, 并以 5 000 r/min 离心 5 min。②试剂反应孔各加入 4 μ L 血浆, 插入检测孔, 红灯灭取出。③ DAO 和 DLC 孔中各加入 4 μ L 稀释液, BT 孔中加入 4 μ L 显色液。④放入加热仓, 输入患者临床指征, 加热 15 min 后报警响起, 对应仓位绿灯闪烁, 拔出相应的试剂板, 插入检测口, 输入相关临床指征, 检测并记录数据。实验过程严格按照试剂盒说明书操作。

1.4 统计学方法

临床数据采用 SPSS 19.0 软件进行数据处理及分析,数据均先进行正态性检验及方差齐性检验,正态分布及方差齐的计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用方差分析 (LSD-*t* 检验);非正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,采用秩和检验;计数资料比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

使用 USEARCH 8.0 处理原始测序数据,并按照 97% 的序列相似性划分 OTU,通过 70% 的置信度阈值将 OTU 代表序列与 SILVA 数据库 (<http://www.arb-silva.de>) 比对,获得每个 16S rDNA 序列的分类学地位。通过 Shannon-Wiener 多样性指数和 Simpson 多样性指数等评估各样品的 α 多样性,利用非参数 Mann-Whitney U 检验和 Kruskal-Wallis rank sum test 多组间进行差异显著性检验。

通过软件 R 完成 PCoA、heatmap 以及 Lefse 的分析。并对脓毒症及非脓症患者血 D-乳酸和细菌内毒素分别与肠道菌群 α 多样性指数、主要菌门比例进行 Spearman 秩相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 组间一般资料比较

脓毒症组、非脓毒症组、健康对照组三组间患者年龄和体重指数差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。通过 χ^2 检验,脓毒症组与非脓毒症组的基础疾病和手术类型差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。同时,脓毒症组的 APACHE II 和 SOFA 评分显著高于非脓毒症组 ($P < 0.05$)。

2.2 脓毒症组临床感染资料

脓毒症组患者原发感染部位以肺部和腹腔为主、在发生了感染后多使用广谱抗生素,具体感染相关临床资料如表 2 所示。经过标本的细菌培养,一些脓毒症组患者的痰及血标本培养呈阳性,具体感染病原学及病原学标本如表 3 所示。

2.3 脓症患者临床感染致病菌与肠道相应致病菌属变化一致性观察分析

脓毒症组患者中 S5、S6、S7、S8 号脓症患者痰培养阳性,S7 患者血培养阳性。痰培养结果:鲍曼不动杆菌(患者编号为 S5、S6、S8)、嗜麦芽窄食单胞菌(患者编号为 S6、S7)、肠球菌属(患者编号为 S7);血培养为大肠杆菌(患者编号为

S7)。由图 1 可见临床细菌培养阳性的脓症患者其肠道菌群中已有相应菌属比例升高。

2.4 脓毒症组、非脓毒症组血 D-乳酸、细菌内毒素水平比较

脓毒症组患者入住 ICU 后第 1 天血细菌内毒素水平明显高于非脓毒症组 ($P=0.01$);而 D-乳酸水平比较差异无统计学意义 ($P=0.82$)。见表 4。

2.5 脓毒症组、非脓毒症组血 D-乳酸、细菌内毒素水平与肠道菌群相关性分析

在对脓毒症肠道菌群特点研究的基础之上采用 Spearman 秩相关性分析提示:非脓毒症组和脓毒

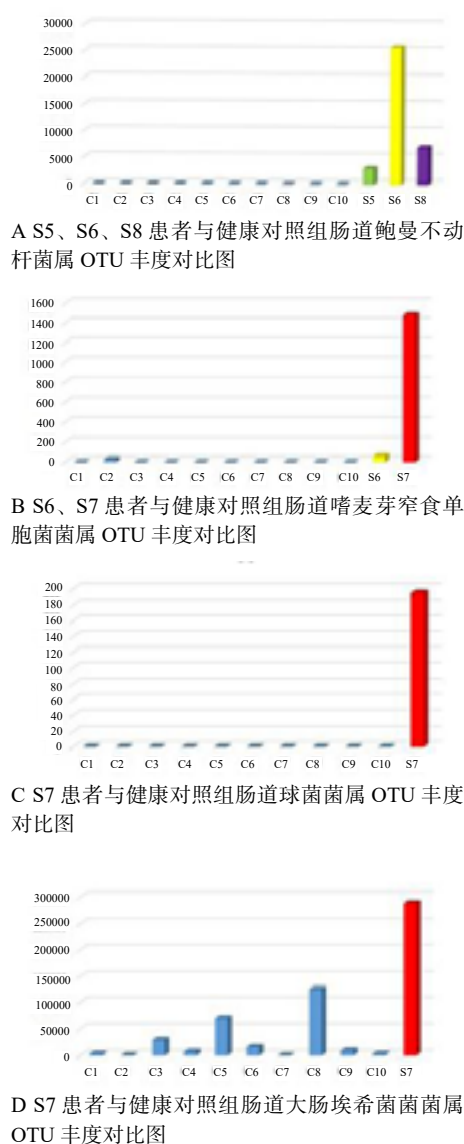


图 1 中 C_n 表示编号为 *n* 的健康人,相对应的柱形图表示其肠道内相应菌属 OUT(Operational Taxonomic Unit, 分类操作单元) 丰度

图 1 感染致病菌与肠道相应致病菌属变化一致性观察分析
Fig2 Observation of the consistency of clinical infection pathogens and intestinal pathogens

表 4 脓毒症组、非脓毒症组血 D-乳酸、细菌内毒素水平比较, $M(P_{25}, P_{75})$

Table 4 Comparison of D-lactic acid and bacterial endotoxin levels between the sepsis group and the non-sepsis group, $M(P_{25}, P_{75})$

组别	D-乳酸 (mg/L)	细菌内毒素 (U/L)
非脓毒症组	15.45 (11.14, 20.83)	2.26(1.00, 5.84)
脓毒症组 (D1)	13.09 (6.90, 26.45)	12.14(5.79, 14.46)
Z 值	-0.23	-2.80
P 值	0.82	0.01

表 5 非脓毒症和脓毒症组患者血 D-乳酸、细菌内毒素水平与各指标的相关性分析

Table 5 Correlation analysis of serum D-lactic acid and bacterial endotoxin levels with various indexes in sepsis and non-sepsis groups

变量	D-乳酸		细菌内毒素	
	r 值	P 值	r 值	P 值
变形菌门比例	0.468	0.038	0.169	0.477
厚壁菌门比例	-0.532	0.016	0.021	0.930
拟杆菌门比例	0.069	0.772	-0.206	0.383
F+B	-0.382	0.097	0.110	0.645
ACE 指数	0.126	0.596	-0.084	0.724
Chao 指数	0.033	0.890	-0.081	0.733
Shannon 指数	-0.274	0.243	-0.035	0.885
Simpson 指数	0.244	0.301	0.032	0.895

症组患者血 D-乳酸水平与其肠道厚壁菌门比例呈负相关, 与变形菌门比例呈正相关 (均 $P < 0.05$); 与 α 多样性指数、厚壁菌门 + 拟杆菌门比例 (即 F+B)、拟杆菌门比例均无相关性 (均 $P > 0.05$)。非脓毒症组和脓毒症组患者细菌内毒素水平与上述指标均无相关性 (均 $P > 0.05$)。

3 讨论

脓毒症发病率、病死率高, 早期识别及治疗困难, 已经成为困扰全球的问题, 进一步提高脓毒症患者的诊疗水平对全球健康问题具有深远的意义^[6]。脓毒症 3.0 定义^[4]强调了脓毒症同器官功能障碍间的密切关系, 而肠道被公认为器官功能障碍的“发动机”^[1]。肠道菌群作为肠道的重要组成部分, 发挥着生理影响、生物合成、代谢等重要的生理作用, 而危重疾病却导致菌群多样性发生多种变化, 如多样性的减少和致病菌的过量过度增长等^[7-8]。本研究的前期研究通过脓毒症组、非脓毒症组、健康对照组肠道菌群 α 多样性、 β 多样性比较, 证实与健康对照组相比较脓毒症组及非脓毒症组无论是菌群数量和分布状态, 还是组间结构均存在差异性^[10]。通过优势物种 Heatmap 图显

示健康对照组、非脓毒症组、脓毒症组存在共有菌属, 但非脓毒症组、脓毒症组患者均出现正常菌属的含量下降、消失及异常菌属的出现。研究发现, 厚壁菌门 (firmicutes) 和拟杆菌门 (bacteroidetes) 是健康对照组粪便菌群的两大主要菌门, 两者共占肠道菌群 74.4%~97.6%。与健康对照组相比, 非脓毒症组、脓毒症组患者厚壁菌门与拟杆菌门之和 (即 F+B) 在粪菌中的比例下降, 差异均具有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。在健康患者粪菌中变形菌门 (proteobacteria) 比例均 $< 10\%$, 而非脓毒症组、脓毒症组患者变形菌门扩张, 个别患者比例可高达 82%, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)^[5]。因此, 不难发现脓毒症和非脓毒症患者肠道菌群紊乱存在三大特征表现: 第一、肠道菌群丰度及多样性下降, 菌群结构变化且个体间差异更大^[8]; 第二、优势专性厌氧菌丰度下降、兼性厌氧菌丰度升高^[8-9]; 第三、有益菌共生菌属含量下降, 致病菌属含量增多并可占主导地位^[8, 11]。而 ICU 内的非脓毒症、脓毒症患者肠道菌群结构发生如此大的变化并不令人意外。首先脓症患者及非脓症患者生理状态发生变化, 导致肠道环境及肠黏膜血供改变, 发生肠黏膜炎症, 进而导致肠道菌群正常生长平衡被打破, 出现肠道菌群紊乱^[12-4]。其次因为 ICU 患者都不同程度接触各种内源性调节剂 (如儿茶酚胺产生增加、葡萄糖代谢改变和胃肠动力障碍) 以及临床干预措施 (如质子泵抑制剂、阿片类药物、营养支持和抗生素) 都将不同程度影响菌群的居住环境, 进而影响菌群结构^[15]。

入住 ICU 的脓毒症及非脓症患者发生了肠道菌群紊乱, 同时也出现了肠道屏障功能障碍^[16]。本研究将脓毒症及非脓症患者血 D-乳酸、细菌内毒素水平分别与肠道菌群的 α 多样性指数、主要菌门进行相关性分析。结果表明脓症患者肠道厚壁菌门比例与肠屏障损伤程度呈负相关、而变形菌门比例与肠屏障损伤呈正相关。健康人结肠上皮保持着缺氧环境, 而 ICU 内脓毒症和非脓毒症发生肠道炎症或抗生素治疗等会增加结肠上皮细胞氧合作用, 从而破坏肠道厌氧环境致使兼性厌氧的变形杆菌门可以进行有氧呼吸而在肠道内扩张, 而专性厌氧的厚壁菌门丰度下降。而厚壁菌门是产生丁酸盐的主要菌门, 丁酸盐又是肠道上皮细胞的主要能量来源, 因此脓症患者肠道菌群紊乱可导致肠道上皮细胞丧失能量来源而凋亡^[9, 17-19, 21], 导致肠

屏障损伤。同时,肠道菌群的组成变化与许多人类疾病有关,但驱动这种失调的机制还不完全清楚。到目前为止的多项研究均提示这种“失调”表现为变形杆菌门的兼性厌氧细菌的扩张^[20]。本研究表明入住 ICU 的脓毒症和非脓症患者变形菌门比例与肠屏障损伤呈正相关。有研究表明,抗生素治疗导致小鼠和人类的兼性厌氧变形菌门细菌的非生物扩展^[22]。在小鼠模型中,由遗传易感性、化学物质损伤或肠道病原体感染亦可引发肠道炎症导致变形菌门细菌在肠道内不受控制地扩张^[23-24]。此外,在低度肠道炎症,包括肠易激综合征^[25-26]和代谢综合征^[27]的情况下,可以观察到肠道菌群中变形菌门细菌的大量增加。因此认为,肠道内兼性厌氧的变形菌门的扩张可以作为肠道的微生态失调和肠道上皮功能紊乱的标志^[28],从而间接证明肠道厚壁菌门的丰度下降、变形菌门扩张与肠道屏障功能损伤存在一定相关性。

本研究发现痰培养鲍曼不动杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、大肠杆菌、肠球菌属阳性及血培养大肠杆菌阳性的脓症患者,在行上述培养获得阳性结果之前已可见其肠道内相应致病菌属的扩张,表明临床感染致病菌与肠道致病菌属扩张可能具有潜在一致性。Taur 等^[29]研究也发现临床感染的病原体与肠道优势致病菌属具有一致性,当肠道内的致病菌含量明显升高成为优势菌属后,则容易出现该种致病菌导致的临床感染。Tamburini 等^[30]在菌株水平将血流感染与肠道菌群分析进行精准匹配,发现大肠杆菌、肺炎克雷伯菌引起的血流感染患者在发生感染前可在肠道中找到相应的菌株,提示感染可能来源于肠道;非肠道致病菌引起的血流感染(铜绿假单胞菌、表皮葡萄球菌),在患者肠道菌群中也可鉴定出相应菌株。Yeh 等^[8]也观察到肺炎患者痰培养结果与肠道菌群优势菌属具有一致性。感染、创伤及休克等情况下,肠黏膜屏障在缺血缺氧以及炎症打击的情况下出现结构及功能的受损^[1],并且发生肠道微生态紊乱的现象^[6]。笔者推测肠腔内大量复制的致病菌及其产物如内毒素可能通过受损的肠道黏膜屏障进入到血液、淋巴液及其他远隔器官,进而导致远端靶器官功能损伤。

脓症患者发生了肠道微生态紊乱,肠道菌群紊乱与肠屏障功能障碍是其重要表现形式,两者之间存在相关性。进一步观察发现脓毒症时肠

道致病菌属的扩张与临床感染的病原菌可能具有潜在一致性。

作者贡献声明 杨小娟:实验操作、论文撰写;杨小娟、刘丹:数据收集及整理、统计学分析;杨晓军:研究设计、论文修改;彭彬彬:实验操作

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Meng M, Klingensmith NJ, Coopersmith CM. New insights into the gut as the driver of critical illness and organ failure[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2017, 23(2): 143-148. DOI:10.1097/MCC.0000000000000386.
- [2] Suau A, Bonnet R, Sutren M, et al. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65(11): 4799-4807. DOI:10.1128/AEM.65.11.4799-4807.1999.
- [3] Sun XQ, Fu XB, Zhang R, et al. Relationship between plasma D (-)-lactate and intestinal damage after severe injuries in rats[J]. *World J Gastroenterol*, 2001, 7(4): 555-558. DOI:10.3748/wjg.v7.i4.555.
- [4] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. *JAMA*, 2016, 315(8): 801-810. DOI:10.1001/jama.2016.0287.
- [5] 刘丹, 王晓红, 张小彬, 等. 脓症患者肠道菌群紊乱的临床研究[J]. *中华急诊医学杂志*, 2019, 28(6): 736-742. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2019.06.015.
- [6] Klingensmith NJ, Coopersmith CM. The gut as the motor of multiple organ dysfunction in critical illness[J]. *Crit Care Clin*, 2016, 32(2): 203-212. DOI:10.1016/j.ccc.2015.11.004.
- [7] Antushevich H. Fecal microbiota transplantation in disease therapy[J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 503: 90-98. DOI:10.1016/j.cca.2019.12.010.
- [8] Yeh A, Rogers MB, Firek B, et al. Dysbiosis across multiple body sites in critically ill adult surgical patients[J]. *Shock*, 2016, 46(6): 649-654. DOI:10.1097/SHK.0000000000000691.
- [9] Shimizu K, Ogura H, Goto M, et al. Altered gut flora and environment in patients with severe SIRS[J]. *J Trauma*, 2006, 60(1): 126-133. DOI:10.1097/01.ta.0000197374.99755.fe.
- [10] Yang XJ, Liu D, Ren HY, et al. Effects of sepsis and its treatment measures on intestinal flora structure in critical care patients[J]. *World J Gastroenterol*, 2021, 27(19): 2376-2393. DOI:10.3748/wjg.v27.i19.2376.
- [11] Lankelma JM, van Vught LA, Belzer C, et al. Critically ill patients demonstrate large interpersonal variation in intestinal microbiota dysregulation: a pilot study[J]. *Intensive Care Med*, 2017, 43(1): 59-68. DOI:10.1007/s00134-016-4613-z.
- [12] Marshall JC, Christou NV, Meakins JL. The gastrointestinal tract. The “undrained abscess” of multiple organ failure[J]. *Ann Surg*, 1993,

- 218(2): 111-119. DOI:10.1097/00000658-199308000-00001.
- [13] Winter SE, Winter MG, Xavier MN, et al. Host-derived nitrate boosts growth of *E. coli* in the inflamed gut[J]. *Science*, 2013, 339(6120): 708-711. DOI:10.1126/science.1232467.
- [14] Albenberg L, Esipova TV, Judge CP, et al. Correlation between intraluminal oxygen gradient and radial partitioning of intestinal microbiota[J]. *Gastroenterology*, 2014, 147(5): 1055-1063.e8. DOI:10.1053/j.gastro.2014.07.020.
- [15] Haak BW, Levi M, Wiersinga WJ. Microbiota-targeted therapies on the intensive care unit[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2017, 23(2): 167-174. DOI:10.1097/MCC.0000000000000389.
- [16] 王晓红, 刘芳, 张胜, 等. 一氧化氮释放分子 2 对休克大鼠肠黏膜上皮屏障的保护作用[J]. *中华急诊医学杂志*, 2019, 28(1): 50-55. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2019.01.010.
- [17] Donohoe DR, Garge N, Zhang XX, et al. The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon[J]. *Cell Metab*, 2011, 13(5): 517-526. DOI:10.1016/j.cmet.2011.02.018.
- [18] Shimizu K, Ogura H, Hamasaki T, et al. Altered gut flora are associated with septic complications and death in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome[J]. *Dig Dis Sci*, 2011, 56(4): 1171-1177. DOI:10.1007/s10620-010-1418-8.
- [19] Madan JC, Salari RC, Saxena D, et al. Gut microbial colonisation in premature neonates predicts neonatal sepsis[J]. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2012, 97(6): F456-F462. DOI:10.1136/fetalneonatal-2011-301373.
- [20] Shimizu K, Ogura H, Hamasaki T, et al. Altered gut flora are associated with septic complications and death in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome[J]. *Dig Dis Sci*, 2011, 56(4): 1171-1177. DOI:10.1007/s10620-010-1418-8.
- [21] 卫威, 余洽高, 宋振举. Gpr174 对脓毒症肠道菌群和代谢的影响[J]. *中华急诊医学杂志*, 2021, 30(4): 443-448. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2021.04.012.
- [22] Hurley JC. Is selective decontamination of the digestive tract safe? [J]. *Clin Infect Dis*, 2015, 60(11): 1729-1730. DOI:10.1093/cid/civ125.
- [23] Kelly BJ, Imai I, Bittinger K, et al. Composition and dynamics of the respiratory tract microbiome in intubated patients[J]. *Microbiome*, 2016, 4: 7. DOI:10.1186/s40168-016-0151-8.
- [24] Edgar RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nat Methods*, 2013, 10(10): 996-998. DOI:10.1038/nmeth.2604.[PubMed]
- [25] Taur Y, Xavier JB, Lipuma L, et al. Intestinal domination and the risk of bacteremia in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Clin Infect Dis* 55(7):905-914, 2012. DOI : 10.1093/cid/cis580.
- [26] Costello EK, Lauber CL, Hamady M, et al. Bacterial community variation in human body habitats across space and time[J]. *Science*, 2009, 326(5960): 1694-1697. DOI:10.1126/science.1177486.
- [27] Caporaso JG, Lauber CL, Costello EK, et al. Moving pictures of the human microbiome[J]. *Genome Biol*, 2011, 12(5): R50. DOI:10.1186/gb-2011-12-5-r50.
- [28] Litvak Y, Byndloss MX, Tsolis RM, et al. Dysbiotic proteobacteria expansion: a microbial signature of epithelial dysfunction[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2017, 39: 1-6. DOI:10.1016/j.mib.2017.07.003.
- [29] Taur Y, Xavier JB, Lipuma L, et al. Intestinal domination and the risk of bacteremia in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Clin Infect Dis*, 2012, 55(7): 905-914. DOI:10.1093/cid/cis580.
- [30] Tamburini FB, Andermann TM, Tkachenko E, et al. Precision identification of diverse bloodstream pathogens in the gut microbiome[J]. *Nat Med*, 2018, 24(12): 1809-1814. DOI:10.1038/s41591-018-0202-8.

(收稿日期: 2021-10-19)

(本文编辑: 何小军)