

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2023.12.018

❖ 临床研究 ❖

肠道菌群水平与早产极低出生体重新生儿坏死性小肠结肠炎预后的相关性

贾益, 应海燕, 李少芳

(汉中三二〇一医院新生儿科, 陕西 汉中 723000)

【摘要】目的: 分析肠道菌群水平与早产极低出生体重新生儿坏死性小肠结肠炎(NEC)预后的相关性。**方法:** 选取 105 例早产极低出生体重新生儿合并 NEC 患儿为研究对象并设为 NEC 组, 按照患儿预后, 将存活患儿分为存活组($n=74$)与死亡组($n=31$), 并选取同期 30 例未合并 NEC 的早产极低出生体重儿纳入对照组。比较 NEC 患儿与对照组儿童实验室指标、炎症因子水平、肠道菌群水平, 并比较两组 NEC 患儿治疗后肠道菌群水平、炎症因子水平。**结果:** NEC 组大便潜血阳性、 $\text{HCO}_3^- < 21 \text{ mmol/L}$ 、血培养阳性、C-反应蛋白 $> 10 \text{ mg/L}$ 、血小板计数 $> 100 \times 10^9/\text{L}$ 、白细胞计数 $< 5 \times 10^9/\text{L}$ 、白细胞计数 $> 20 \times 10^9/\text{L}$ 比例均高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。NEC 组白细胞介素 1β (IL- 1β)、IL-6、IL-10 及肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 均高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。NEC 组厚壁菌门、梭菌纲丰度及 Shannon 指数均高于对照组, 其变形菌门丰度、 γ -变形菌纲丰度均低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。NEC 组 105 例患儿中, 存活 74 例, 死亡 31 例, 死亡率 29.52%。存活组大便潜血阳性、 $\text{HCO}_3^- < 21 \text{ mmol/L}$ 、血培养阳性、C-反应蛋白 $> 10 \text{ mg/L}$ 、白细胞计数 $< 5 \times 10^9/\text{L}$ 、白细胞计数 $> 20 \times 10^9/\text{L}$ 比例均低于死亡组, IL- 1β 、IL-6、IL-10、TNF- α 水平均低于死亡组, 厚壁菌门、梭菌纲丰度及 Shannon 指数均低于死亡组, 变形菌门丰度、 γ -变形菌纲丰度高于死亡组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:** 合并 NEC 的早产极低出生体重儿普遍存在肠道功能、血常规相关指标异常及炎症反应、肠道菌群失调, 且上述变化越显著, 患儿预后越差。

【关键词】 肠道菌群; 极低出生体重; 坏死性小肠结肠炎; 预后

【中图分类号】 R722.1 **【文献标志码】** A

Correlation analysis between intestinal flora level and prognosis of necrotizing enterocolitis in premature very low birth weight newborns

JIA Yi, YING Hai-yan, LI Shao-fang

(Department of Neonatology, Hanzhong 3201 Hospital, Hanzhong 723000, Shaanxi, China)

【Abstract】Objective: To analyze the correlation between intestinal flora level and prognosis of necrotizing enterocolitis (NEC) in premature very low birth weight newborns. **Methods:** 105 premature very low birth weight newborns with NEC were selected and assigned to the NEC group. According to the prognosis of the children, the surviving children were included in the survival group ($n=74$) and the dead children were included in the death group ($n=31$). At the same time, 30 premature very low birth weight infants without NEC were selected as the control group. The laboratory indicators, inflammatory factor, and intestinal flora levels were compared between NEC group and the control group, and the intestinal flora and inflammatory factors levels after treatment were compared between the two groups of NEC children. **Results:** The fecal occult blood, $\text{HCO}_3^- < 21 \text{ mmol/L}$, positive blood culture, C-reactive protein $> 10 \text{ mg/L}$, platelet count $> 100 \times 10^9/\text{L}$, white blood cell count $< 5 \times 10^9/\text{L}$ and white blood cell count $> 20 \times 10^9/\text{L}$ in NEC group were higher than those in the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The levels of interleukin -1β (IL- 1β), IL-6, IL-10 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in NEC group were higher than those in control group ($P < 0.05$). The abundance of sclerenchyma, Clostridium and Shannon index in NEC group were higher than those in the control group, while the abundance of Proteobacteria and γ -Proteobacteria were all lower than those in the control group, with statistical significance ($P < 0.05$). Of the 105 children in NEC group, 74 survived and 31 died, with a mortality rate of 29.52%. The ratio of fecal occult blood, $\text{HCO}_3^- < 21 \text{ mmol/L}$, positive blood culture, C-reactive protein $> 10 \text{ mg/L}$, white blood cell count $< 5 \times 10^9/\text{L}$, white blood cell count $> 20 \times 10^9/\text{L}$ in survival group was lower than that in death group, and its IL- 1β , IL-6, IL-10 and TNF- α were lower than those in death group. The abundance of sclerenchyma, Clostridium and Shannon index in survival group were lower than those in the death group, and the abundance of proteobacteria and γ -proteobacteria in survival group were higher than those in death group, and the differences were statistically significant

基金项目: 陕西省西安市科技计划项目(20YxYJ0006)

作者简介: 贾益(1986-), 女, 主治医师。E-mail: Jiayi2023213@126.com

($P < 0.05$). **Conclusion:** Premature very low birth weight infants with NEC generally have abnormal intestinal function, blood routine related indexes, inflammatory reaction and intestinal flora imbalance, and the more significant these changes are, the worse the prognosis of the infants is.

[Key words] Intestinal flora; Very low birth weight; Necrotizing enterocolitis; Prognosis

坏死性小肠结肠炎 (necrotizing enterocolitis, NEC) 是一种好发于早产儿的胃肠道危重症, 在活产儿中, NEC 发病率仅为 1% ~ 3%, 但早产儿 NEC 发病率增至 6% ~ 10%, 且低出生体重、胎龄过小、呼吸机辅助通气时间过长均可导致 NEC 发生风险上升^[1]。数据^[2]显示, 极低出生体重儿 NEC 发病率高达 3% ~ 14%, 同时, 合并 NEC 的早产儿死亡率高达 46.5% ~ 48.0%。随着产科和新生儿管理技术的提高, 早产极低出生体重儿的存活率升至 93.6%, 但新生儿 NEC 发病率仍居高不下, 且短肠综合征、肠梗阻等并发症不仅导致患儿长期依赖肠外营养, 也使其神经系统发育受阻、生长发育面临严重威胁^[3]。有学者^[4]认为, 肠道菌群定植直接影响着 NEC 的发生发展, 早产儿、极低出生体重儿肠道菌群定植延迟、肠道微生态失调均与 NEC 有关。本研究拟进一步明确肠道菌群水平与早产极低出生体重新生儿合并 NEC 患儿预后的关联。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2020 年 1 月至 2022 年 12 月汉中三二〇一医院收治的 105 例早产极低出生体重合并 NEC 患儿为研究对象并设为 NEC 组。纳入标准: (1) 胎龄 < 35 周; (2) 符合极低出生体重儿标准^[5]: 出生体重 < 1 500 g; (3) 出生后 24 h 内入住新生儿重症监护病房 (NICU); (4) 明确 NEC 诊断^[6]: 存在体温不稳、呼吸暂停、心动过缓、嗜睡等全身表现, 伴胃潴留、腹胀、呕吐、粪便潜血等胃肠道表现, 影像学检查示肠扩张、肠梗阻、肠壁积气。排除标准: (1) 合并先天性消化道畸形; (2) 合并腹泻或染色体异常; (3) 合并非 NEC 相关性肠穿孔; (4) 入院后 12 h 内死亡或 1 周内自动出院; (5) 接受口服益生菌干预。选取同期 30 例早产极低出生体重新生儿纳入对照组, 筛选标准与 NEC 组 (1) ~ (3) 一致, 排除标准与 NEC 组 (1) ~ (5) 一致且排除合并 NEC 或继发 NEC 患儿。两组新生儿一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 NEC 组与对照组新生儿临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	胎龄 (周)	出生体重 (g)	性别 (男/女)
NEC 组 ($n = 105$)	31.49 ± 3.06	1 338.36 ± 152.90	54/51
对照组 ($n = 30$)	31.65 ± 2.71	1 347.41 ± 137.66	17/13
t/χ^2 值	0.259	0.292	0.257
P 值	0.796	0.771	0.612

1.2 治疗方法

NEC 组、对照组新生儿均接受常规治疗及新生儿管理、喂养。根据 NEC 组患儿并发症发生情况给予对应治疗策略^[7]: 保守治疗包括肠道休息、禁食等, 腹胀、发热、便血活动期禁食水; 待患儿呕吐症状消失、便血好转、腹胀消除后给予低渗透压流质饮食, 并逐渐增加摄入量。禁食期间持续给予高营养液静脉输注, 包括 10% 葡萄糖、复方氨基酸、水解蛋白等。若患儿出现严重腹胀, 给予 M 胆碱受体阻断药; 病情严重者酌情给予糖皮质激素、抗生素干预, 以抑制炎症反应、免疫反应、预防或治疗感染。若患儿合并门静脉积气、穿孔、腹膜刺激症等严重并发症且保守治疗未见好转, 则及时予以手术治疗, 手术方案包括坏死部分肠管切除联合肠吻合、造瘘, 或肠外置管后切除坏死肠管联合肠造瘘等, 患儿手术均由同组医师完成。NEC 组 105 例患儿中, 71 例接受保守治疗, 34 例在保守治疗的基础上接受手术治疗。

1.3 观察指标

于 NEC 组、对照组新生儿入组时检测其实验室指标、炎性因子及肠道菌群水平。其中, 实验室指标包括粪便潜血阳性、 $\text{HCO}_3^- < 21 \text{ mmol/L}$ 、血培养阳性、C-反应蛋白 $> 10 \text{ mg/L}$ 、血小板计数 $> 100 \times 10^9/\text{L}$ 、白细胞计数 $< 5 \times 10^9/\text{L}$ 、白细胞计数 $> 20 \times 10^9/\text{L}$ 比例。炎性因子包括白细胞介素 1β (IL- 1β)、IL-6、IL-10 以及肿瘤坏死因子 α (TNF- α), 均采用酶联免疫吸附法 (ELISA 法) 进行检测。肠道菌群检测方法^[8]: 取新生儿粪便标本, 统一送至肠道微生物检测实验室, 行 16 S rDNA 高通量核苷酸测序, 对厚壁菌门、变形菌门、 γ -变形菌纲、梭菌纲丰度进行检测, 并计算粪便样本 Shannon 指数。Shannon 指数 = $H' = -\sum_{i=1}^r [Pi/L/nPi]$, 其中, $pi = ni/N$, 即第 i 个种的相对丰度。

此外, 按照 NEC 组患儿预后, 将其分别纳入存活组、死亡组, 计算患儿死亡率并比较存活组、死亡组治疗前炎性因子及肠道菌群水平差别, 探究不同预后患儿肠道菌群水平差异特点。

1.4 统计学分析

使用 SPSS 22.0 软件对相关数据进行分析。计数资料以 [$n(\%)$] 表示, 组间比较采用独立样本 χ^2 检验; 计量资料均符合正态分布, 以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NEC 组与对照组新生儿实验室指标比较

NEC 组大便潜血阳性、 $\text{HCO}_3^- < 21 \text{ mmol/L}$ 、血

培养阳性、C-反应蛋白 $> 10 \text{ mg/L}$ 、血小板计数 $> 100 \times 10^9/\text{L}$ 、白细胞计数 $< 5 \times 10^9/\text{L}$ 、白细胞计数 $> 20 \times 10^9/\text{L}$ 比例均高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 NEC 组与对照组新生儿实验室指标比较 [$n(\%)$]

组别	大便潜血阳性	$\text{HCO}_3^- < 21 \text{ mmol/L}$	血培养阳性	C-反应蛋白 $> 10 \text{ mg/L}$	血小板计数 $> 100 \times 10^9/\text{L}$	白细胞计数 $< 5 \times 10^9/\text{L}$	白细胞计数 $> 20 \times 10^9/\text{L}$
NEC 组 ($n=105$)	79(75.24)	61(58.10)	77(73.33)	60(57.14)	90(85.71)	25(23.81)	67(63.81)
对照组 ($n=30$)	4(13.33)	3(10.00)	4(13.33)	3(10.00)	5(16.67)	0(0.00)	6(20.00)
χ^2 值	37.758	21.648	35.000	20.836	53.353	8.766	18.033
P 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.003	< 0.001

2.2 NEC 组与对照组炎症因子比较

NEC 组 IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 均高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 NEC 组与对照组新生儿炎症因子指标比较 ($\bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)

组别	IL-1 β	IL-6	IL-10	TNF- α
NEC 组 ($n=105$)	4.29 \pm 0.71	2.05 \pm 0.37	2.74 \pm 0.41	1.07 \pm 0.33
对照组 ($n=30$)	2.03 \pm 0.19	0.81 \pm 0.15	1.42 \pm 0.18	0.52 \pm 0.05
t 值	17.217	17.901	17.132	9.075
P 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

2.3 NEC 组与对照组肠道菌群水平比较

NEC 组厚壁菌门、梭菌纲丰度及 Shannon 指数均高于对照组; 变形菌门丰度、 γ -变形菌纲丰度低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 NEC 组与对照组新生儿肠道菌群水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	厚壁菌门丰度 ($\times 10^4$ 个)	变形菌门丰度 ($\times 10^4$ 个)	γ -变形菌纲丰度 ($\times 10^4$ 个)	梭菌纲丰度 ($\times 10^4$ 个)	Shannon 指数
NEC 组 ($n=105$)	24.08 \pm 3.55	34.49 \pm 5.61	33.15 \pm 3.96	1.65 \pm 0.28	3.15 \pm 0.26
对照组 ($n=30$)	12.71 \pm 1.83	86.27 \pm 12.29	56.69 \pm 8.42	0.14 \pm 0.01	2.46 \pm 0.18
t 值	16.881	32.972	21.597	29.454	13.616
P 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

2.4 预后情况比较

NEC 组 105 例患儿中, 存活 74 例, 死亡 31 例, 死亡率 29.52%。存活组大便潜血阳性、 $\text{HCO}_3^- < 21 \text{ mmol/L}$ 、血培养阳性、C-反应蛋白 $> 10 \text{ mg/L}$ 、白细胞计数 $< 5 \times 10^9/\text{L}$ 、白细胞计数 $> 20 \times 10^9/\text{L}$ 比

例均低于死亡组, 其 IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 均低于死亡组, 且厚壁菌门、梭菌纲丰度及 Shannon 指数均低于死亡组; 存活组变形菌门丰度、 γ -变形菌纲丰度高于死亡组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 5-表 7。

表 5 存活组与死亡组新生儿实验室指标比较 [$n(\%)$]

组别	大便潜血阳性	$\text{HCO}_3^- < 21 \text{ mmol/L}$	血培养阳性	C-反应蛋白 $> 10 \text{ mg/L}$	血小板计数 $> 100 \times 10^9/\text{L}$	白细胞计数 $< 5 \times 10^9/\text{L}$	白细胞计数 $> 20 \times 10^9/\text{L}$
存活组 ($n=74$)	51(68.92)	33(44.59)	49(66.22)	31(41.89)	61(82.43)	10(13.51)	41(55.41)
死亡组 ($n=31$)	28(90.32)	28(90.32)	28(90.32)	29(93.55)	29(93.55)	15(48.39)	26(83.87)
χ^2 值	5.372	18.766	6.492	23.805	1.390	14.647	7.666
P 值	0.020	< 0.001	0.011	< 0.001	0.138	< 0.001	0.006

表 6 存活组与死亡组新生儿炎症因子指标比较 ($\bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)

组别	IL-1 β	IL-6	IL-10	TNF- α
存活组 ($n=74$)	3.68 \pm 0.52	1.73 \pm 0.24	2.36 \pm 0.35	0.78 \pm 0.11
死亡组 ($n=31$)	4.95 \pm 0.44	2.58 \pm 0.19	3.87 \pm 0.21	1.54 \pm 0.09
t 值	11.919	17.535	22.357	33.971
P 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

表 7 存活组与死亡组新生儿肠道菌群水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	厚壁菌门丰度 ($\times 10^4$ 个)	变形菌门丰度 ($\times 10^4$ 个)	γ -变形菌纲丰度 ($\times 10^4$ 个)	梭菌纲丰度 ($\times 10^4$ 个)	Shannon 指数
存活组 ($n=74$)	19.94 \pm 2.65	41.26 \pm 4.83	38.19 \pm 3.64	0.99 \pm 0.25	2.81 \pm 0.19
死亡组 ($n=31$)	29.33 \pm 2.17	30.35 \pm 4.26	27.24 \pm 2.81	2.08 \pm 0.13	3.66 \pm 0.10
t 值	17.419	10.917	14.969	22.965	23.535
P 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

3 讨论

近年来,越来越多的研究^[9]显示,早产极低出生体重新生儿细菌定植模式改变,与肠道生态失衡及 NEC 的发生密切相关。

既往研究^[10]显示,低体重、喂养不当、早产等因素均可导致肠道外源性病原体局部富集能力增强,此时 B 毒素 *Welchii* 杆菌残气荚膜杆菌以及产毒性自身菌群平衡严重失调,与小肠壁缺血坏死有关。随着缺血坏死肠段的增多,病变逐渐累及结肠、回肠、空肠等解剖结构,进而引发广泛性病变,是导致常规解痉、抗炎、免疫抑制等保守治疗效果受限的主要原因^[11]。虽然本研究 34 例患儿接受手术治疗,但 105 例 NEC 患儿的死亡率仍高达 29.52%,与过往报道^[12]数据接近,表明,合并 NEC 的早产极低出生体重新生儿死亡率较高,且即便行手术治疗亦难以提升患儿生存质量。因此,进一步明确 NEC 的发病机制及影响患儿预后的相关因素尤为重要。

本研究就 NEC 患儿与未合并 NEC 的早产极低出生体重新生儿实验室指标、炎症因子指标进行了对比,发现 NEC 患儿普遍存在实验室指标异常,并以白细胞、血小板数量改变为主,同时,患儿往往合并显著机体炎症反应。有学者^[13]认为,IL-6、TNF- α 等炎症因子不仅参与了 NEC 的发生发展,也与患儿预后密切相关:例如,IL-1 β 、TNF- α 直接参与 T 淋巴细胞的诱导分化,与肠道黏膜损伤及保护性因子修复抑制有关。

除实验室指标、炎症因子外,NEC 患儿亦存在明显肠道菌群水平变化,并以厚壁菌门、梭菌纲丰度上升,及变形菌门、 γ -变形菌纲丰度下降为主要变化,同时伴随着 Shannon 的上升。这一变化一方面意味着 NEC 患儿肠道菌群定植模式存在明显异常,另一方面,肠道菌群失调也直接导致一氧化氮、超氧自由基生成增多,进而造成肠黏膜损伤加剧^[14]。肠黏膜损伤导致硝酸盐生成减少、专性厌氧菌利用物质不足,进一步加剧炎症反应进展^[15]。本研究结果显示,死亡组患儿肠道菌群水平变化更为明显,印证了上述结论。

综上,合并 NEC 的早产极低出生体重儿普遍存在肠道功能、血常规相关指标异常及炎症反应、肠道

菌群失调,且上述变化越显著,患儿预后越差。

参考文献

- [1] Duchon J, Barbian ME, Denning PW. Necrotizing enterocolitis [J]. *Clinics in Perinatology*, 2021, 48(2): 229 - 250.
- [2] 孙丽丽. 妈咪爱配合营养支持预防新生儿坏死性小肠结肠炎效果观察 [J]. *临床医学*, 2018, 38(1): 80 - 82.
- [3] Denning NL, Prince JM. Neonatal intestinal dysbiosis in necrotizing enterocolitis [J]. *Molecular Medicine*, 2018, 24(1): 4.
- [4] 赵修浩, 周锦, 吕志宝. 益生菌防治新生儿坏死性小肠结肠炎机制研究进展 [J]. *中华小儿外科杂志*, 2021, 42(2): 176 - 180.
- [5] Gopalakrishna KP, Macadangdang BR, Rogers MB, et al. Maternal IgA protects against the development of necrotizing enterocolitis in preterm infants [J]. *Nature Medicine*, 2019, 25(7): 1110 - 1115.
- [6] Fundora JB, Guha P, Shores DR, et al. Intestinal dysbiosis and necrotizing enterocolitis: assessment for causality using Bradford Hill criteria [J]. *Pediatric Research*, 2020, 87(2): 235 - 248.
- [7] 王朕, 仰曙芬. 肠道菌群对新生儿坏死性小肠结肠炎影响的研究进展 [J]. *中国儿童保健杂志*, 2020, 28(11): 1231 - 1233, 1238.
- [8] Brunse A, Deng L, Pan X, et al. Fecal filtrate transplantation protects against necrotizing enterocolitis [J]. *The ISME Journal*, 2022, 16(3): 686 - 694.
- [9] Paveglio S, Ledala N, Rezaul K, et al. Cytotoxin-producing *Klebsiella oxytoca* in the preterm gut and its association with necrotizing enterocolitis [J]. *Emerging Microbes & Infections*, 2020, 9(1): 1321 - 1329.
- [10] Kim CS, Claud EC. Necrotizing enterocolitis pathophysiology: how microbiome data alter our understanding [J]. *Clinics in Perinatology*, 2019, 46(1): 29 - 38.
- [11] 田亚丽, 王芳, 田东惠, 等. 粪菌移植对坏死性小肠结肠炎新生小鼠肠道菌 Th1/Th2 细胞因子表达的影响 [J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(2): 149 - 153.
- [12] 姚爱敏, 陈楠, 孙学江, 等. 微生态制剂在早产儿坏死性小肠结肠炎中的防治效果 [J]. *川北医学院学报*, 2018, 33(1): 26 - 28.
- [13] 李会荣, 崔昭, 梁博, 等. 溃疡性结肠炎患者肠道菌群含量变化及其与炎症因子及 TOLL 样受体分子的相关性 [J]. *中国医药导报*, 2020, 17(19): 156 - 159.
- [14] 陈永满, 徐渭贤, 孙立宝, 等. 乌司他丁联合康复新液胃管注入治疗新生儿坏死性小肠结肠炎疗效观察 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2018, 27(11): 1189 - 1191.
- [15] Niemarkt HJ, De Meij TG, van Ganzewinkel CJ, et al. Necrotizing enterocolitis, gut microbiota, and brain development: role of the brain-gut axis [J]. *Neonatology*, 2019, 115(4): 423 - 431.

(收稿日期: 2023 - 07 - 02

修回日期: 2023 - 08 - 06)