

• 论 著 •

重症监护室肺部感染患者肠道菌群特征分析*

文 杨¹, 蒋小艳¹, 王浩园², 范文辉², 周茂霖³, 周 强^{1△}

1. 重庆市高新区人民医院重症医学科, 重庆 400039; 2. 重庆市第九人民医院神经内科, 重庆 400799;

3. 重庆理工大学药学与生物工程学院, 重庆 400054

摘 要:目的 探究重症监护室(ICU)肺部感染患者的肠道菌群特征,为肺部感染的危重症患者微生态靶向治疗提供借鉴。方法 收集 2021 年 3—9 月入住重庆高新区人民医院 ICU 的肺部感染患者粪便样本 78 例, ICU 非肺部感染患者粪便样本 22 例,健康人群的粪便样本 40 例,采用 16S rRNA 测序技术对粪便菌群进行检测鉴定,通过生物信息学方法比较并分析 ICU 肺部感染患者肠道菌群结构特征。结果 ICU 肺部感染患者的肠道微生物与健康人群相比, alpha 多样性显著降低。ICU 肺部感染患者肠道菌群以厚壁菌门、拟杆菌门、普雷沃菌属和拟杆菌属为主。处于极度失调(单一菌群丰度>50%)的 ICU 肺部感染患者的肠道菌群主要富集了普雷沃菌属、拟杆菌属、肠球菌和埃希菌等细菌。LEfSe 分析提示,疣微菌科是 ICU 肺部感染患者肠道菌群中的标志性微生物。ICU 肺部感染患者与健康人群相比,糖类和氨基酸代谢通路有所降低。另外,患者年龄结构、体质量指数、急性生理与慢性健康评分系统 II 评分和住院时间与部分肠道菌群存在紧密联系。结论 ICU 肺部感染患者与健康人群相比,肠道菌群多样性显著降低。ICU 肺部感染患者中肠道菌群极度失调者,可能由于感染特殊菌属(普雷沃菌、肠球菌、埃希菌等)引起自身免疫系统失调并诱导炎症因子产生从而引起肺部炎症,提示肠道菌群与 ICU 肺部感染患者联系密切。肠道菌群中的疣微菌科及其代表菌属阿克曼菌可为 ICU 肺部感染患者微生态靶向治疗提供参考。

关键词:危重症患者; 肺部感染; 肠道菌群; 16S rRNA 测序; 菌群多样性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.17.011

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2023)17-2101-07

文献标志码:A

Characteristics of intestinal microbiota in patients with pulmonary infection in intensive care unit*

WEN Yang¹, JIANG Xiaoyan¹, WANG Haoyuan², FAN Wenhui², ZHOU Maolin³, ZHOU Qiang^{1△}

1. Department of Critical Care Medicine, People's Hospital of Gaoxin District, Chongqing 400039,

China; 2. Department of Neurology, Chongqing Ninth People's Hospital, Chongqing 400799, China;

3. College of Pharmacy and Bioengineering, Chongqing University
of Technology, Chongqing 400054, China

Abstract: **Objective** To analyze the characteristics of intestinal microbiota in patients with pulmonary infection in ICU, and to provide suggestion for micro ecological targeted treatment of critically ill patients with pulmonary infection. **Methods** The fecal samples of 78 patients with pulmonary infection and 22 patients with non pulmonary infection in ICU were collected from March to September 2021. Meanwhile, 40 fecal samples from healthy people were collected as the control. Those fecal samples were detected and identified by 16S rRNA sequencing technology. Characteristics of intestinal microbiota of patients with ICU pulmonary infection were analyzed by bioinformatics methods. **Results** The intestinal microbiota of patients with pulmonary infection in ICU were analyzed. Compared with healthy people, alpha diversity was significantly reduced. The intestinal microbiota of patients with pulmonary infection in ICU were dominated by Firmicutes, Bacteroidetes, Prevotella and Bacteroides. However, The intestinal microbiota of patients with pulmonary infection in ICU who were in extreme disorder (single flora abundance>50%) were mainly enriched with Prevotella, Bacteroides, Enterococcus and Escherichia. LEfSe analysis indicated that verrucomicrobiaceae was a marker micro-organism in patients with pulmonary infection in ICU. Compared with healthy people, patients with pulmonary infection in ICU have lower carbohydrate and amino acid metabolic pathways. The patient's age structure, BMI, APACHE II score and length of stay were closely related to some intestinal flora. **Conclusion** The in-

* 基金项目:重庆市科卫联合医学科研项目(2021MSXM125);重庆市北碚区基础研究与前沿探索(2020-24)。

作者简介:文杨,男,副主任医师,主要从事重症医学的治疗和研究工作。△ 通信作者, E-mail:77713088qq.com。

testinal microbiota diversities of patients with pulmonary infection in ICU were significantly lower than those of normal people. The extreme imbalance of intestinal microbiota in patients with pulmonary infection in ICU may be caused by disorder of autoimmune system and the production of inflammatory factors caused by special bacteria (Prevotella, Enterococcus, Escherichia, etc.). Those results suggest that intestinal flora is closely related to patients with pulmonary infection in ICU. Verrucomicrobiaceae, such as akkermansia in intestinal flora can provide candidate for micro ecological targeted treatment of patients with pulmonary infection in ICU.

Key words: critically ill patient; pulmonary infection; intestinal flora; 16S rRNA sequencing; bacterial diversity

重症监护室(ICU)患者病情危重,免疫力低下,侵入性操作较多,加之频繁使用抗菌药物,容易出现肺部感染,是医院感染的高危人群^[1-2]。肠道菌群对抑制宿主感染、促进炎症反应和维持宿主免疫反应与菌群活性间的平衡至关重要,还可帮助宿主抵抗致病菌,如诱导宿主的免疫交叉反应以产生针对病原体的保护性免疫^[3]。研究指出,危重症患者的肠道菌群多样性显著降低,肠道微生态紊乱似乎与不良预后相关^[4-5]。另有研究提出了“肺肠轴”的概念,肠道菌群通过微生物分泌物和免疫调控因子对肺部健康产生影响,肠道中的消化副产物可能影响免疫系统从而调控肺部的炎症,而肠道菌群和肺部菌群可能通过淋巴中的液体互相交换^[6]。因此,维持肠道菌群稳定对提高 ICU 肺部感染患者的治疗效果十分重要。本研究使用 16S rRNA 测序技术分析危重症患者粪便微生物菌群的结构特征,并将肺部感染与非肺部感染的危重患者和健康人群的检测分析结果进行比较,进而寻找危重症患者肺部感染的肠道微生态危险因素,有助于制订新的预防和治疗策略。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2021 年 3—9 月重庆市高新区人民医院 ICU 收治的 50~90 岁的危重症患者和体检中心的 50~90 岁健康人群作为研究对象,包括 78 例 ICU 肺部感染患者(Y-ICU 组),22 例 ICU 非肺部感染患者(N-ICU 组)和 40 例健康人群(HC 组)。ICU 肺部感染患者中,未服用抗菌药物的患者 48 例,服用抗菌药物的患者 30 例。ICU 非肺部感染患者中,未服用抗菌药物的患者 15 例,服用抗菌药物的患者 7 例。挑选 ICU 中未服用抗菌药物的患者作为 N-antibiotic 组(63 例),服用抗菌药物的患者作为 Y-antibiotic 组(37 例)。

Y-ICU 组中,男 42 例,女 36 例;年龄(75.95±11.46)岁;体质指数(BMI)(21.37±4.39)kg/m²;急性生理与慢性健康评分系统 II 评分(APACH II 评分)(21.03±9.17)分;住院时间的中位数为 34.50 d。N-ICU 组中,男 11 例,女 11 例;年龄(74.77±8.85)岁;BMI(20.33±2.88)kg/m²;APACH II 评分(19.14±7.84)分;住院时间的中位数为 11.50 d。HC 组中,男 20 例,女 20 例;年龄(72.03±9.61)岁;BMI(22.11±3.00)kg/m²。Y-ICU 组与 N-ICU 组的

年龄、BMI、APACH II 评分和住院时间差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性;Y-ICU 组、N-ICU 组、HC 组年龄结构和 BMI 差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 纳入、排除标准 纳入标准:入住 ICU 的危重症患者。排除标准:年龄<50 岁者;存在消化道疾病或行胃肠道手术治疗者;采样前 1 个月内服用过益生菌或抗微生物制剂者及合并自身免疫性疾病、血液系统疾病者。本研究符合医学伦理学标准,获得重庆高新区人民医院伦理委员会批准,入组前均征得受试者或直系家属知情同意,并签署知情同意书。

1.3 方法

1.3.1 样本采集 用 5 mL 粪便采集管(上海朗赋实业有限公司)收集 ICU 患者入院 1 d 内的新鲜粪便样本或健康人群的新鲜粪便样本置于干冰上保存,于 2 h 内转移到-80℃冰箱保存,直至提取粪便中微生物基因组 DNA。

1.3.2 粪便基因组 DNA 提取与 16S rRNA 测序 本研究采用 FastDNA® Spin Kit for Soil 试剂盒(美国 MP Biomedicals 公司)提取研究对象的粪便基因组 DNA。利用 1%琼脂糖凝胶电泳(5 V/cm,20 min)检测基因组 DNA 完整性,用 NanoDrop2000 检测 DNA 纯度和浓度。然后利用引物 338F (5'-ACTC-CTACGGGAGGCAGCA-3') 和 806R (5'-GGAC-TACHVGGGTWTCTAAT-3')对基因组的 16S rDNA 的 V3~V4 区进行第 1 轮扩增,扩增体系(共 20 μL)包含 10 ng 的 DNA 模板,0.8 μL 的正向引物 338-F (5 μmol/L),0.8 μL 的反向引物 806R (5 μmol/L),4 μL 5×Fast Pfu Buffer,2 μL 2.5 mmol/L dNTPs,0.4 μL Fast Pfu Polymerase,0.2 μL BSA,并补 ddH₂O 至 20 μL。第 1 轮扩增程序为:95℃预变性 3 min;95℃变性 30 s,55℃退火 30 s,72℃延伸 45 s,循环 27 次;72℃再延伸 10 min,4℃冷却保存。第 1 轮扩增产物选择 3 μL 2%的凝胶电泳(120 V,20 min)用于检验目的片段是否成功扩增。随后,用磁珠法纯化第 1 轮扩增产物。纯化的扩增产物由重庆浦洛通基因医学研究院上机测序。扩增产物加上特异性 barcode 用于识别样本,16S rRNA V3~V4 区扩增产物采用双端测序策略(PE300)。测序反应在 Illumina MiSeq 测序平台上进行,要求每个样本产生的测序数

据不低于 50 000 条序列片段。

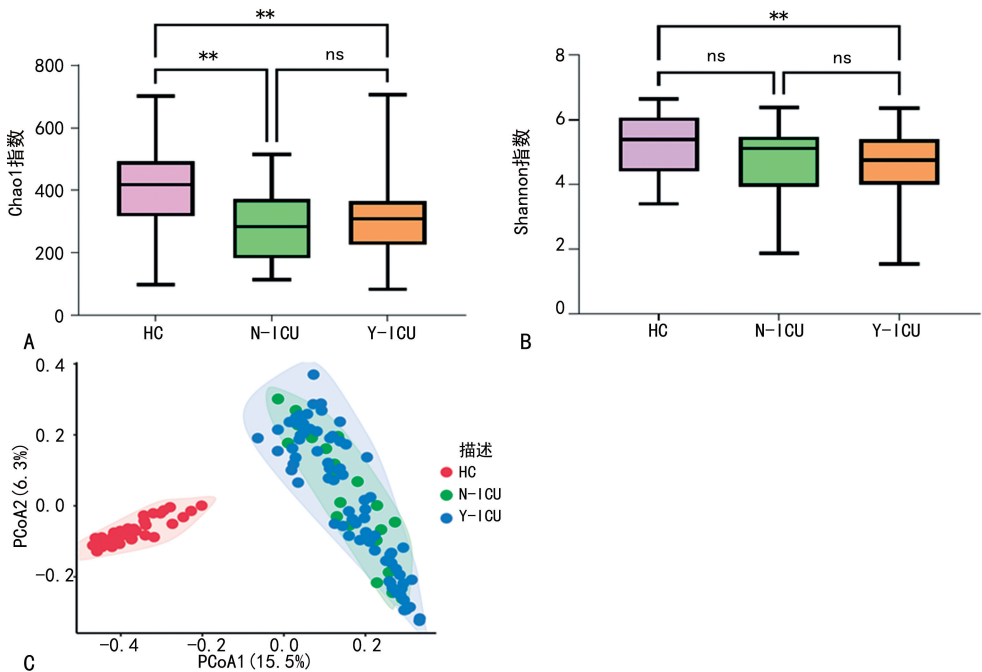
1.3.3 生物信息学分析 将 Miseq 测序下机数据根据特异性 barcode 序列进行样本拆分,获得每个样本双端测序数据即 Paired-end(PE) 序列片段,根据 PE 序列片段之间的 overlap 采用 Flash 软件对数据进行拼接(拼接后的序列称为标签),每个样本不得低于 50 000 条标签。对标签序列进行质量控制,去除 N 含量超过 0.1% 的标签,去除质量得分<20 分的低质量标签。基于 97% 的序列相似性用 Usearch 将序列归类操作成运算分类单元(OTU),基于 SLILVA 16S rRNA 基因数据库,用 RDP(<http://rdp.come.mus.edu/>)进行序列的微生物分类(置信度 70%),使用统计学分析方法对每一样本进行不同分类级别的分类。根据统计学分析结果,得到每个样本的微生物群落多样性和丰度,并通过箱线图等形式呈现出来。用 Mothur 分析样本的 alpha 多样性,其中包含 Shannon 指数、Chao1 指数。利用 Bray-Curtis 相异指数和两项非参数检验[置换多元方差分析(Adonis 分析)和多响应置换过程分析(MRPP 分析)]对数据进行相异检验;利用主成分分析(PCA)比较不同样本的菌群结构,用聚类-热图分析不同菌群对治疗策略的响应。采用 LEfSe 分析(线性判别分析)统计不同组别中有显著作用即差异有统计学意义,微生物类群的 LDA 得分,展示 LDA 得分大于设定阈值(LDA 得分>2 分)的物种。然后,利用 Tax4Fun 软件预测 ICU 患者肠道菌群群落的功能。最后,用皮尔逊相关系数矩阵图表征 ICU 患者肠道菌群与临床指标的相关性。

1.4 统计学处理 采用软件 GraphPad Prism9 进行数据处理及统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用非参数检验,多组间比较采用非参数 Kruskal-Wallis H 检验,两组间数据比较采用非参数 Mann-Whitney U 检验。采用 Spearman 秩相关进行相关性分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ICU 肺部感染患者肠道菌群的物种多样性比较分析 通过对 Y-ICU、N-ICU 和 HC 组进行 16S rRNA 高通量测序,总共获得 8 267 315 条有效序列,平均有效长度为 401 bp。这些序列以 97% 的序列相似性聚类为 2 540 个 OTU。ICU 患者肠道菌群的物种多样性较健康人差异有统计学意义($P<0.05$),与 HC 组比较,Y-ICU 组和 N-ICU 组 Chao1 指数均下降($P=0.002, P<0.001$),见图 1A。与 HC 组比较,Y-ICU 组 Shannon 指数降低($P=0.002$),Y-ICU 组与 HC 组有较为不同的肠道菌群丰富度,见图 1B。N-ICU 与 Y-ICU 组 Chao1 指数和 Shannon 指数比较差异无统计学意义($P>0.05$),Y-ICU 和 N-ICU 组具有相似的菌群丰富度和多样性。

笔者采用 Adonis 分析探讨 Y-ICU 与 N-ICU 和 HC 的菌群结构是否存在差异,结果显示,Y-ICU 组和 N-ICU 组的肠道菌群结构与 HC 组比较差异均有统计学意义($P=0.001, 0.001$),但 Y-ICU 和 N-ICU 组肠道菌群结构差异无统计学意义($P=0.907$),见图 1C。



注:A为物种丰富度 Chao1 指数;B为物种多样性 Shannon 指数分析;C为 β 多样性 PCoA 分析;ns 为 $P \geq 0.05$; * $0.001 \leq P < 0.01$ 。

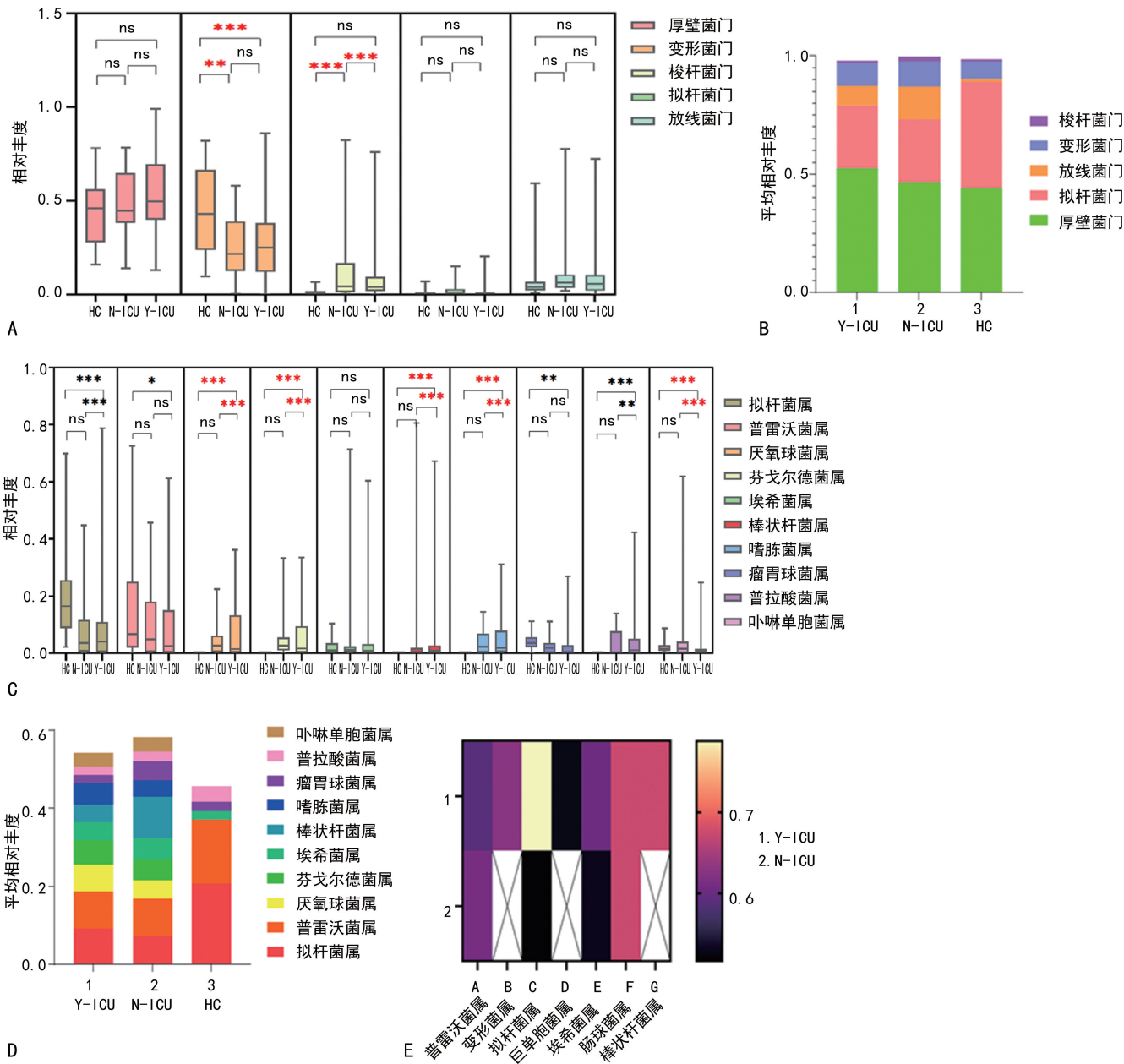
图 1 Y-ICU、N-ICU 和 HC 组肠道菌群多样性

2.2 Y-ICU、N-ICU 和 HC 组肠道菌群门和属水平 组成差异分析 选择 Y-ICU、N-ICU 和 HC 组优势菌

群中相对丰度排名前 5 位的门水平进行分析,结果显示,HC、N-ICU、Y-ICU 组的肠道菌群都以厚壁菌门和拟杆菌门为主,HC 组厚壁菌门和拟杆菌门平均相对丰度的总和高于 N-ICU 组和 Y-ICU 组 ($P < 0.05$)。与 N-ICU 组比较,Y-ICU 组厚壁菌门、变形菌门、梭杆菌门、拟杆菌门和放线菌门的相对丰度差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 2A、B。

选择 Y-ICU、N-ICU 和 HC 组优势菌群中相对丰度排名前 10 位的属水平进行分析,结果显示,3 组的肠道菌群以普雷沃菌属和拟杆菌属为主,且 HC 组属水平多样性差异有统计学意义($P < 0.05$)。与 HC 组

相比,排名前 10 位的菌属中,棒状杆菌属、卟啉单胞菌属、厌氧球菌属、芬戈尔德菌属和嗜脲菌属明显富集于 N-ICU 组和 Y-ICU 组($P < 0.05$)。值得注意的是,双歧杆菌作为最常见的肠道益生菌之一,其相对丰度在 Y-ICU 组中较 N-ICU 组更低(1.17% vs. 2.35%)。见图 2C、D。另外,在 HC、N-ICU 和 Y-ICU 组中大部分样本的单一优势菌群相对丰度 $< 50\%$,但是 78 例 ICU 肺部感染患者的样本中,有 11 例样本的单一优势菌群相对丰度 $\geq 50\%$,表明这些样本存在较严重的肠道菌群失调,且其优势菌群主要集中在普雷沃菌属、拟杆菌属、肠球菌和埃希菌等,见图 2E。



注:A为相对丰度排名前5位的门水平差异分析的箱线图;B为相对丰度排名前5位的门水平分析;C为相对丰度排名前10位的属水平差异分析的箱线图;D为相对丰度排名前10位的属水平分析;E为ICU患者单一优势菌群丰度 $\geq 50\%$ 的样本热图;HC、N-ICU、Y-ICU分别为HC组、N-ICU组、Y-ICU组;ns为 $P \geq 0.05$,*为 $0.010 \leq P < 0.05$;** $0.001 \leq P < 0.01$;*** $P < 0.001$ 。

图2 Y-ICU、N-ICU和HC组肠道菌群门和属水平组成差异分析

本研究在 Y-ICU 和 N-ICU 组之间总共筛选到 10 个相对丰度差异有统计学意义的 OTU,其中在 Y-

ICU 组富集的有 8 个 OTU,包括疣微菌科、阿克曼菌属、疣微菌纲、疣微菌目、疣微菌门、月形单胞菌属、克劳芽孢杆菌属、消化链球菌科。在 N-ICU 组中富集的有 2 个 OTU,为短杆菌属和微球菌属。N-ICU 组和 Y-ICU 组差异最明显的肠道微生物是疣微菌科及其代表菌属阿克曼菌。见图 3。

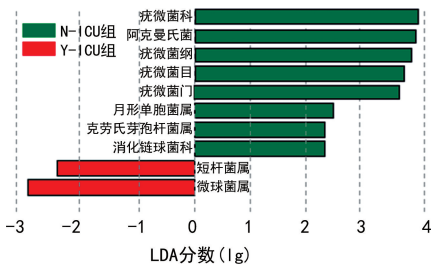


图 3 Y-ICU 组与 N-ICU 组基于 OTU 的 LefSe 分析

2.3 ICU 患者肠道菌群功能预测 共预测获得 6 500 个 KEGG Orthology(KO),可以分类到 210 条代谢通路中。LefSe 分析显示,ICU 患者与健康者比较有 4 条代谢通路差异有统计学意义($P < 0.05$, LDA 得分 >3 分),富集的代谢通路主要是基础代谢相关的通路,如氧化磷酸化、RNA 降解、ABC 转运器、硫继电系统。HC 富集的代谢通路主要是与糖类和氨基酸类代谢相关的通路,如戊糖和葡萄糖醛酸转化途径、淀粉和蔗糖代谢、丙氨酸天门冬氨酸和谷氨酸代谢、氨基糖和核苷酸糖新陈代谢等。见图 4。此外,在 Y-ICU 组和 N-ICU 组中未筛选到差异代谢通路。

2.4 ICU 肺部感染患者肠道菌群与临床指标的相关性 结果显示,与 HC 组比较,Y-ICU 和 N-ICU 组厚壁菌门/拟杆菌门的比值增加($P < 0.05$)。HC 组厚壁菌门/拟杆菌门的比值都 <10 ,但是有 13 例 ICU 患

者厚壁菌门/拟杆菌门的比值 >10 ,其中 3 例患者该比值更是 >100 ,且厚壁菌门/拟杆菌门比值过大的样本都表现出拟杆菌门丰度极小的倾向。ICU 肺部感染者和非肺部感染者的厚壁菌门/拟杆菌门的比值差异无统计学意义($P > 0.05$)。革兰阳性菌/革兰阴性菌的比值在 HC、N-ICU 和 Y-ICU 组中差异无统计学意义($P > 0.05$)。另外,服用抗菌药物与否的 ICU 患者尽管肠道菌群的 Chao1 指数差异有统计学意义($P < 0.05$),但是 Shannon 指数在两组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 5A、B。

笔者评估了年龄结构、BMI、APACH II 评分和住院时间等与 Y-ICU 肠道菌群的关系。结果显示,ICU 患者肺部感染仅与粪球菌属有关($P < 0.05$)。APACHE II 评分与拟杆菌属和费克蓝姆菌属呈正相关($P < 0.05$),与葡萄球菌属和消化链球菌属呈负相关($P < 0.05$)。住院时间与魏斯菌属呈正相关($P < 0.05$)。BMI 与瘤胃球菌属呈正相关($P < 0.05$),与双歧杆菌属和嗜血杆菌属呈负相关($P < 0.05$),见图 5C。

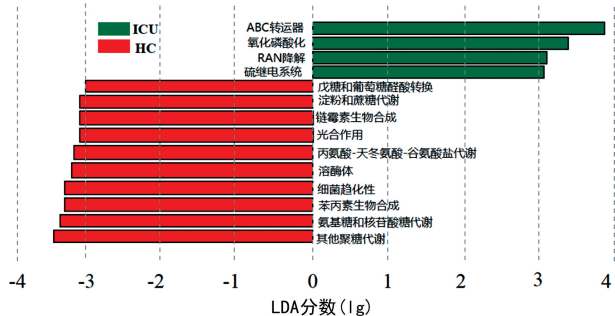
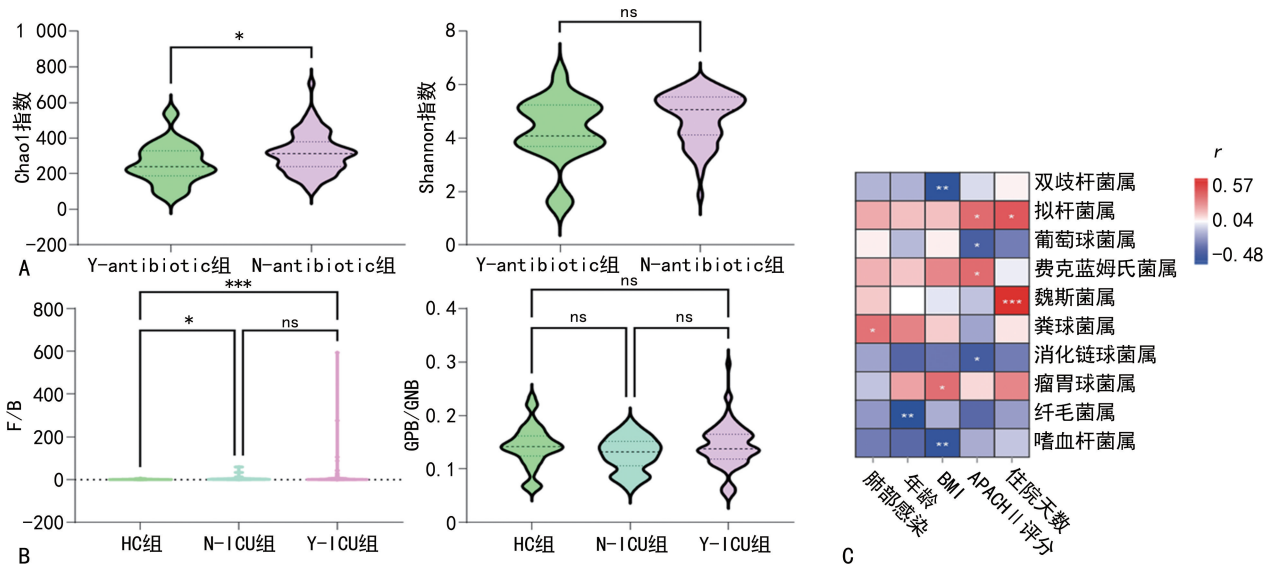


图 4 基于代谢通路 ICU 患者和健康者 LefSe 分析



注:A 为 ICU 患者中抗菌药物服用和非抗菌药物服用者肠道菌群 alpha 多样性;B 为 HC、N-ICU、Y-ICU 组中厚壁菌门/拟杆菌门、革兰阳性菌/阴性菌比值情况;C 为患者肠道菌群与临床参数 Spearman 秩相关系数热图;GPB/GBN 分别表示革兰阳性菌/革兰阴性菌的比值;F/B 表示厚壁菌门/拟杆菌门的比值;ns 为 $P \geq 0.05$; * $0.01 \leq P < 0.05$; ** $0.001 \leq P < 0.01$; *** $P < 0.001$ 。

图 5 肠道菌群与临床指标相关性

3 讨 论

肠道菌群被认为是人体的一个重要“器官”，对营养物质代谢、人体自身发育、免疫、疾病发生和转归均具有重要意义^[7]。肠道中定植的厌氧菌、兼性厌氧菌可诱导肠道黏膜引起免疫反应，以抵御病原微生物的入侵，增强宿主的抗病能力，避免肠道受损害^[8-10]。危重症患者的微生物组研究方兴未艾，多项研究证实肠道菌群失调在多种危重疾病中发挥着重要作用，如脓毒症、急性肾损伤和多器官功能衰竭等^[11-13]。ICU 肺部感染的部分患者的肠道菌群可能存在极端生态失调，同时免疫功能低下难以制衡肠道微生物的平衡，从而容易引发感染。危重症患者持续暴露于广泛的内环境改变（如儿茶酚胺产生增加、葡萄糖代谢改变和胃肠功能障碍）以及临床干预措施（如质子泵抑制剂、阿片类药物、营养支持和抗菌药物），这些因素均会影响肠道菌群组成，而紊乱的肠道菌群有助于病原菌的生长^[14]。因此，在危重症患者治疗过程中，结合肠道菌群研究和临床数据，综合分析宿主和微生物间的相互作用，以及环境因素的影响，可对其治疗提供积极的建议。通过对驱动微生物群落发育的生态和环境因子、菌群如何影响肺部感染的研究，可以为危重症患者康复过程提供临床指导，并具有重要的诊断价值。

本文通过对 ICU 患者和健康人群进行 16S rRNA 高通量测序分析，发现 ICU 肺部感染患者肠道菌较健康人群 Chao1 指数显著降低，肠道菌群显著失调，这与以往研究结果一致^[11-13]。通过分析健康人群、危重症肺部感染和非肺部感染患者的肠道菌群组成发现，危重症肺部感染患者肠道中双歧杆菌（促进健康的共生微生物）的丰富度略有降低，而变形菌门（病原微生物）的丰富度高于健康人群，这与之前研究 ICU 患者肠道微生物群落的特征一致^[15]。另外，在肺部感染患者中微生物极度失调的患者（单一菌群相对丰度≥50%）的肠道菌群主要富集了普雷沃菌属、拟杆菌属、肠球菌和埃希菌。其中普雷沃菌属是一种潜在的致病菌，可参与局部和全身感染，常引起口腔、肌肉骨骼、头颈部、皮肤、下呼吸道和肺部等感染^[16-17]。而肠球菌和埃希菌是 ICU 新生儿的主要早期肠道菌群^[18]，埃希菌感染也可通过调节 JAK/STAT 信号，诱导炎症因子——抗菌药物 α (IFN- α) 和抗菌药物 β (IFN- β) 的产生，最终造成肺部炎症或者损伤^[19]。而主要富集在 ICU 患者中的芬戈尔德菌属、嗜脓菌属和卟啉单胞菌属是糖尿病足骨髓炎感染的主要病原菌^[20]。这些证据表明了 ICU 肺部感染患者肠道菌群中与感染相关的病原菌的丰度增加，从一定程度上解释了入住 ICU 的患者有更大的感染风险。而 ICU 肺部感染者中肠道菌群极度失调者造成的肺

部炎症似乎由肠道菌群紊乱引起的自身免疫系统诱导炎症因子所引起。本文的 ICU 患者肠道微生物群落的功能预测表明 ICU 患者肠道微生物糖类和氨基酸类代谢潜力低于健康人群，而糖代谢和氨基酸代谢能力的下降，会使危重症患者的内环境改变，从而影响肠道菌群的组成。因此危重患者需要补充肠内营养或肠外营养来平衡失调的肠道微生态，以提高免疫力。

本研究在探索常见肠道菌群参数与 ICU 肺部感染结局的关系时，结果显示革兰阳性菌/革兰阴性菌的比值在 HC、N-ICU 和 Y-ICU 组中并无明显差异，表明革兰阳性菌/革兰阴性菌的比值不足以作为 ICU 肺部感染患者肠道菌群的特征性指标。厚壁菌门/拟杆菌门这一指标虽然在健康人和 ICU 患者中差异有统计学意义，但是 ICU 肺部感染者和非肺部感染者的厚壁菌门/拟杆菌门的比值并无明显差异，因此认为厚壁菌门/拟杆菌门作为危重症患者中肺部感染者的标志性指标欠缺说服力。另外本研究结合年龄结构、BMI、APACH II 评分和住院时间等评估 ICU 肠道菌群的关系，笔者发现未来拟杆菌属、费克蓝姆菌属、葡萄球菌属、消化链球菌属和魏斯菌属这些指标对提示预后和治疗进展具有参考价值。但是由于本研究采用的临床样本数量有限，是否能把上述菌属作为临床危重症的评价指标还需进一步扩大临床样本数量进行验证。

综上所述，本研究发现与健康人群相比，ICU 肺部感染患者肠道菌群多样性显著降低，微生态失调，病原菌增加，促进健康的共生微生物减少。而 ICU 肺部感染患者肠道菌群的失调也许与糖代谢和氨基酸代谢下降有关。另外，基于肺肠轴理论和本研究的结果，ICU 肺部感染患者可能会通过特殊菌属（普雷沃菌、肠杆菌和埃希菌等）的感染引发自身免疫系统诱导炎症因子产生并最终造成肺部感染，提示肠道菌群失调与 ICU 肺部感染有密切关系，也为 ICU 肺部感染患者的微生态靶向治疗提供了一定的依据。

参考文献

[1] MARTINLOECHES I. Current concepts in community and ventilator associated lower respiratory tract infections in ICU patients[J]. Antibiotics, 2020, 9(7): 380.

[2] 薛勇, 吴化奎, 徐广民, 等. ICU 行气管切开患者下呼吸道感染危险因素及血清 PCT、hCRP 联合检测的早期预测价值研究[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(12): 2380-2384.

[3] 潘杰, 刘来浩, 牟建伟. 肠道菌群与人类健康研究进展[J]. 山东师范大学学报(自然科学版), 2021, 36(4): 337-365.

[4] PREVEL R, ENAUD R, ORIEUX A, et al. Gut bacterio-

biota and mycobiota are both associated with Day-28 mortality among critically ill patients[J]. *Critical Care*, 2022, 26(1):1-9.

[5] MCDONALD D, ACKERMANN G, KHAILOVA L, et al. Extreme dysbiosis of the microbiome in critical illness [J]. *mSphere*, 2016, 1(4):e00199.

[6] CHAKRADHAR S. A curious connection: Teasing apart the link between gut microbes and lung disease[J]. *Nat Med*, 2017, 23(4):402.

[7] 黄旭华, 何俊, 高秀梅. 基于体质及其证型探讨肠道菌群研究进展[J]. *世界科学技术(中医药现代化)*, 2019, 21(6):1089-1096.

[8] JOHANSSON M E V, HANSSON G C. Immunological aspects of intestinal mucus and mucins[J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(10):639-649.

[9] MARION R, MATTHIAS V, CLAUDE K, et al. Gut microbiome, endocrine control of gut barrier function and metabolic diseases[J]. *J Endocrinol*, 2021, 248(2):R67-R82.

[10] VENTURA M, TURRONI F, MOTHERWAY M O C, et al. Host-microbe interactions that facilitate gut colonization by commensal bifidobacteria[J]. *Trends Microbiol*, 2012, 20:467-476.

[11] HAAK B W, PRESCOTT H C, WIERSINGA W J. Therapeutic potential of the gut microbiota in the prevention and treatment of sepsis [J]. *Front Immunol*, 2018, 9:2042.

[12] GONG J, NOEL S, PLUZNICK J L, et al. Gut microbiota-kidney cross-talk in acute kidney injury [J]. *Semin Nephrol*, 2019, 39(1):107-116.

[13] MENG M, KLINGENSMITH N J, COOPERSMITH C M. New insights into the gut as the driver of critical illness and organ failure[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2017, 23(2):143-148.

[14] HAAK B W, LEVI M, WIERSINGA W J. Microbiota-targeted therapies on the intensive care unit. [J]. *Curr Opin Crit Care*, 2017, 23(2):167-174.

[15] TETT A, PASOLLI E, MASETTI G, et al. Prevotelladiversity, niches and interactions with the human host[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2021, 19:585-599.

[16] 曾桂星, 蔡兴东, 刘升明. 宏基因组二代测序鉴定普雷沃菌肺炎感染一例[J]. *海南医学*, 2021, 32(2):267-268.

[17] 甄诚, 蒋伟峰. 新生儿重症监护室早期新生儿肠道大肠埃希菌和肠球菌定植情况及其耐药性分析[J]. *中国肛肠病杂志*, 2022, 42(2):62-64.

[18] JIN Y, JIA Z, CAI Q, et al. *Escherichia coli* infection activates the production of IFN- α and IFN- β via the JAK1/STAT1/2 signaling pathway in lung cells [J]. *Amino Acids*, 2021, 53(10):1609-1622.

[19] 胡萍. 基于 16S rRNA 测序分析糖尿病足骨髓炎病原微生物及比较两种骨活检方法[D]. 广州:南方医科大学, 2018.

(收稿日期:2022-12-12 修回日期:2023-03-29)

(上接第 2100 页)

[12] SHI Y F, KONG W M, LUY X, et al. Traditional Chinese Medicine Xiaoi Jiedu recipe suppresses the development of hepatocellular carcinoma via regulating the microRNA-29a/signal transducer and activator of transcription 3 Axis[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13(1):7329-7342.

[13] LINGVAY I, DESOUZA C V, LALIC K S, et al. A 26-week randomized con-trolled trial of semaglutide once daily versus liraglutide and placebo in patients with type 2 diabetes suboptimally controlled on diet and exercise with or without metformin[J]. *Diabetes Care*, 2018, 41(19):1926-1937.

[14] XU L, LI Y, YIN L, et al. miR-125a-5p ameliorates hepatic glycolipid metabolism disorder in type 2 diabetes mellitus through targeting of STAT3[J]. *Theranostics*, 2018, 8:5593-5609.

[15] 侯黎明, 刘迎见, 舒闪闪. 2 型糖尿病患者外周血单个核细胞 miR-18a、miR-125b 相对表达水平与糖脂代谢、炎症因子及胰岛素抵抗的关系研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(18):2190-2194.

[16] 常凤霞, 蔡薇, 巴晓丽, 等. 血清 miR-125b-5p、miR-146a-5p 表达水平与乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭患者预后的相关性研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(15):1831-1837.

[17] 戴士敏, 荣昆, 徐燕颖, 等. 妊娠期糖尿病患者血清分泌型卷曲相关蛋白 5 与胰岛素抵抗和膳食抗炎指数的关系[J]. *中国妇幼保健*, 2022, 37(7):1217-1219.

[18] KIMBER-TROJNAR Z, PATRO-MALYSZA J, TROJNAR M, et al. Umbilical cord SFRP5 levels of term newborns in relation to normal and excessive gestational weight gain[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(3):E595.

[19] TONG S, JI Q, DU Y, et al. Sfrp5/Wnt pathway: a protective regulatory system in atherosclerotic cardiovascular disease[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2019, 39(8):472-482.

[20] 孙东华, 闫芳, 陈凤玲, 等. SFRP5 对 GDM 患者妊娠结局的预测价值研究[J]. *河北医药*, 2020, 42(11):1641-1644.

[21] 鞠佳桂, 易敏. 分泌型卷曲相关蛋白 5、长链非编码 RNA 人肺腺癌转移相关转录本、脂肪因子网膜蛋白-1 在妊娠糖尿病患者中的表达及其对妊娠结局的预测价值[J]. *中国性科学*, 2021, 30(11):96-99.

(收稿日期:2023-01-11 修回日期:2023-05-15)