

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.05.007

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20221110.1117.002.html\(2022-11-10\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20221110.1117.002.html(2022-11-10))

喂养不耐受的低出生体重早产儿肠道菌群动态变化研究*

邱玉芬¹,高晓燕²,赵丹²,曾尚娟²,陈玉君^{1△}

(1. 广西医科大学第二附属医院新生儿科, 南宁 530007 2. 广西壮族自治区

妇幼保健院/广西儿科疾病临床医学研究中心新生儿科, 南宁 530010)

[摘要] **目的** 探讨发生喂养不耐受(FI)的低出生体重早产儿肠道菌群的动态变化,为应用微生态制剂治疗该类患儿提供临床依据。**方法** 选取2018年1月至2019年12月在广西医科大学第二附属医院分娩,并在新生儿科住院且出现FI的65例低出生体重早产儿作为FI组,选取同期未发生FI的65例早产儿作为对照(非FI组)。检测两组肠道双歧杆菌、乳酸杆菌、肺炎克雷伯菌、大肠杆菌和肠球菌相对丰度,FI组检测时间点为FI出现的第1天(t1),以及FI改善后的第1、7、21、60、90天(t2~t6);非FI组检测时间为入院第1天(t1),以及此时间点后的第7、14、30、60、90天(t2~t6),观察肠道菌群动态变化并进行比较。**结果** t2~t6非FI组双歧杆菌相对丰度高于FI组,且与前一检测时间点比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。t1~t6非FI组乳酸杆菌相对丰度高于FI组,且t3~t6与前一检测时间点比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。t1~t5FI组肺炎克雷伯菌相对丰度高于非FI组,且t2~t6与前一检测时间点比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。除t4外,t1~t6FI组大肠杆菌相对丰度高于非FI组,且t2、t3、t5、t6与前一检测时间点比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。除t2外,t1~t6非FI组肠球菌相对丰度高于FI组,且t2~t5与前一检测时间点比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 低出生体重早产儿肠道菌群紊乱可能导致FI,其肠道菌群结构的改善需较长时间。

[关键词] 早产儿;低出生体重;喂养不耐受;肠道菌群;变化**[中图分类号]** R722.6**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2023)05-0672-04

Dynamic changes of gut microbiomes in low-birth-weight preterm infants with feeding intolerance*

QIU Yufen¹,GAO Xiaoyan²,ZHAO Dan²,ZENG Shangjuan²,CHEN Yujun^{1△}

(1. Department of Neonatology, the Second Affiliated Hospital of Guangxi Medical University,

Nanning, Guangxi 530007, China; 2. Department of Neonatology, Maternal and Child Health

Care of Guangxi Zhuang Autonomous Region/Guangxi Clinical Research

Center for Pediatric Diseases, Nanning, Guangxi 530010, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the dynamic changes of gut microbiomes in low-birth-weight premature infants with feeding intolerance (FI), to provide clinical evidence for the clinical application of probiotics to treatment of such infants. **Methods** A total of 65 premature infants with low birth weight who were delivered in the hospital from January 2018 to December 2019 and were hospitalized in the neonatology Department with FI were selected as the FI group, and 65 premature infants without FI during the same period were selected as the non-FI group. The relative abundance of five microbiomes (Bifidobacterium, lactobacillus, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli and enterococcus) in the two groups were detected. The detection time points of the FI group were the 1st day (t1) when FI appeared, and the 1st, 7th, 21st, 60th and 90th days (t2-t6) after FI improvement. The non-FI group was 1st day after admission (t1), and 7th, 14th, 30th, 60th and 90th days after this time point (t2-t6). The dynamic changes of gut microbiomes were observed and compared between the two groups. **Results** The relative abundance of Bifidobacterial at t2-t6 in the non-FI group

* 基金项目:广西壮族自治区卫生和计划生育委员会自筹经费科研课题(Z20180081)。作者简介:邱玉芬(1983-),副主任医师,在读硕士,主要从事新生儿疾病研究。△ 通信作者, E-mail: chen yujun1006@163.com。

was higher than that in the FI group, and compared with the previous detection time point, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The relative abundance of lactobacilli at t1-t6 in the non-FI group was higher than that in the FI group, and the difference between t3-t6 and the previous detection time point was statistically significant ($P < 0.05$). The relative abundance of Klebsiella from t1 to t5 was higher in the FI group than in the non-FI group, and the difference between t2-t6 and the previous detection time point was statistically significant ($P < 0.05$). Except t4, the relative abundance of Escherichia coli at t1-t6 in the FI group was higher than that in the non-FI group, and there were statistically significant differences in t2, t3, t5 and t6 compared with the previous detection time points ($P < 0.05$). Except t2, the relative abundance of Enterococci at t1-t6 in the non-FI group was higher than that in the FI group, and the difference between t2-t5 and the previous detection time point was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Disturbance of gut microbiomes in low-birth-weight preterm infants may lead to FI, and it takes a long time to improve the gut microbiomes composition.

[Key words] preterm infants; low-birth-weight; feeding intolerance; gut microbiomes; change

喂养不耐受(feeding intolerance, FI)是早产儿常见胃肠道并发症,在出生体重 $< 2\ 000\text{ g}$ 的早产儿中, FI 的发生率为 $60\% \sim 70\%$ ^[1],本院 2017 年统计的发生率约为 50% 。FI 使患儿肠内营养进展缓慢,延迟的肠内喂养产生与饥饿相关并发症的风险,包括黏膜萎缩、绒毛变平滑及细菌移位等,严重影响个体生长发育,对于早产儿更有可能危及生命^[2-3]。但 FI 的发病机制尚未清楚,有研究提示其与胎儿的肠道菌群有关^[4-5],而通过微生态调整肠道菌群后,即使发生 FI,全肠道喂养的时间可被缩短。可见,有益的肠道菌群构成对于胎儿肠道功能的恢复有积极作用,但目前关于发生 FI 的低出生体重的早产儿肠道菌群的研究较少,尤其是动态演变的观察。本研究旨在分析发生 FI 的低出生体重早产儿肠道若干菌群的动态变化,为临床应用微生态制剂治疗该类患儿提供临床依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 1 月至 2019 年 12 月广西医科大学第二附属医院分娩且在新生儿科住院,并出现 FI 的 65 例低出生体重早产儿作为 FI 组。纳入标准:(1)均为剖宫产,生后均给予配方奶粉喂养;(2)胎龄 < 37 周;(3)出生体重为 $1\ 500 \sim 2\ 500\text{ g}$;(4)出现 FI,FI 诊断标准如下:早产儿无法消化肠内食物,鼻饲下胃内残余量超过喂入量的 50% ,伴有腹胀、呕吐或二者兼有^[6-7]。排除标准:(1)肠道畸形;(2)严重感染;(3)坏死性肠炎;(4)有抢救窒息史。另选择同期住院的与 FI 组胎龄、日龄、体重、剖宫产等相匹配,且未发生 FI 的 65 例早产儿作为对照(非 FI 组)。两组一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,见表 1。两组出院后在本院儿童保健门诊定期随访,并完成目标菌群检测。研究取得受试对象家长的知情

同意,且研究过程遵循医学伦理委员会所制订的伦理学标准。

表 1 两组儿童基线资料比较($n = 65$)

项目	FI 组	非 FI 组	χ^2/t	P
男/女(n/n)	37/28	32/33	0.494	0.482
胎龄($\bar{x} \pm s$, 周)	31.70 \pm 1.27	31.40 \pm 1.24	1.363	0.175
出生体重($\bar{x} \pm s$, kg)	1.68 \pm 0.26	1.71 \pm 0.30	-0.609	0.543
开奶时间($\bar{x} \pm s$, h)	24.00 \pm 1.11	23.90 \pm 1.22	0.342	0.733
FI 出现时间[M(Q1, Q3), d]	2(2, 4)	—	—	—
FI 改善时间[M(Q1, Q3), d]	9(8, 11)	—	—	—

—:无数据。

1.2 方法

1.2.1 菌群采集

新生儿自然排便后,挑取粪便 $3 \sim 5\text{ g}$ 盛于一次性无菌容器中送检,如不易获得粪便时或排便困难的患儿及幼儿,可采用直肠拭子方法采集,取出后置于无菌容器内送检。所有粪便标本应立即送检,如不能立即送检,室温下保存 $\leq 2\text{ h}$ 。标本运送过程中必须保证其安全,防止溢出,避免细菌污染。

1.2.2 鉴定方法

菌落鉴定使用珠海迪尔生物细菌测试药敏板、梅里埃 Vitek2 鉴定卡进行细菌鉴定。粪便细菌 DNA 提取;粪便细菌 DNA PCR 扩增;DNA 变性梯度凝胶电泳(denatured gradient gel electrophoresis, DGGE);DNA 回收与纯化;T-A 克隆及测序结果比对,以及 DNA 丰度分析等方法参考相关文献^[8-9]。FI 组检测时间点为出生后当天,即住院第 1 天(t1),以及 FI 改善后的第 1、7、21、60、90 天(t2-t6);非 FI 组 t1 检测时点也为出生后当天(入院第 1 天),以及此时间

点后的第7、14、30、60、90天(t2~t6)。

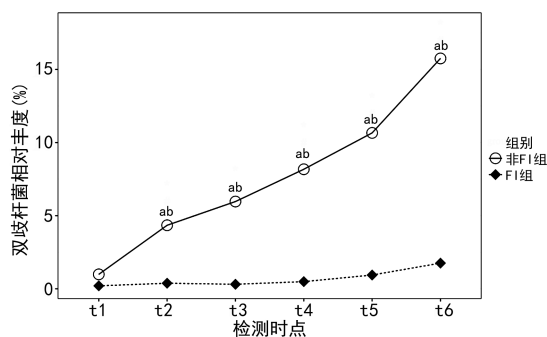
1.3 统计学处理

采用 SPSS25.0 软件进行数据分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用独立样本 t 检验;不符合正态分布的计量资料以 $M(Q1, Q3)$ 表示;计数资料以频数或百分率表示,比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 双歧杆菌相对丰度比较

t2~t6 非 FI 组双歧杆菌相对丰度高于 FI 组,且与前一检测时间点比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。

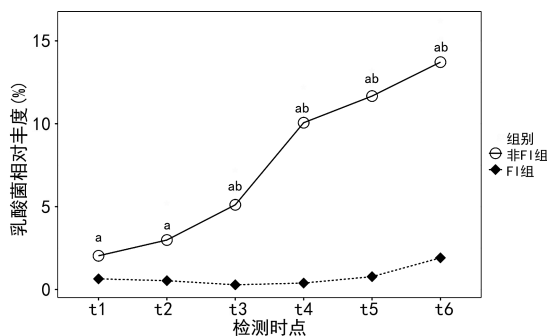


^a: $P < 0.05$, 与 FI 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与同组前一检测时间点比较。

图 1 两组双歧杆菌相对丰度比较

2.2 乳酸杆菌相对丰度比较

t1~t6 非 FI 组乳酸杆菌相对丰度高于 FI 组,且 t3~t6 与前一检测时间点比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 2。



^a: $P < 0.05$, 与 FI 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与同组前一检测时间点比较。

图 2 两组乳酸杆菌相对丰度比较

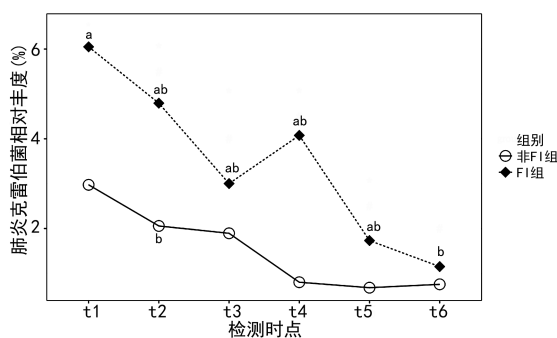
2.3 肺炎克雷伯菌相对丰度比较

t1~t5 FI 组肺炎克雷伯菌相对丰度高于非 FI 组,且 t2~t6 与前一检测时间点比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 3。

2.4 大肠杆菌相对丰度比较

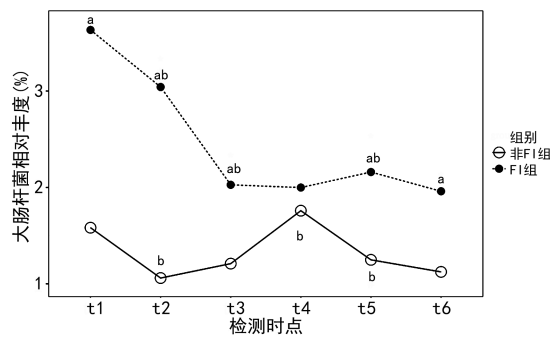
除 t4 外, t1~t6 FI 组大肠杆菌相对丰度高于非 FI 组,且 t2、t3、t5、t6 与前一检测时间点比较,差异有

统计学意义($P < 0.05$),见图 4。



^a: $P < 0.05$, 与非 FI 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与同组前一检测时间点比较。

图 3 两组肺炎克雷伯菌相对丰度比较

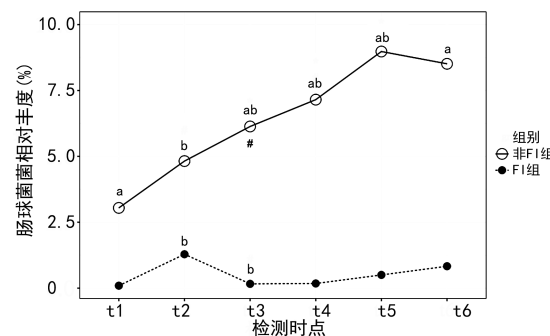


^a: $P < 0.05$, 与非 FI 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与同组前一检测时间点比较。

图 4 两组大肠杆菌相对丰度比较

2.5 肠球菌相对丰度比较

除 t2 外, t1~t6 非 FI 组肠球菌相对丰度高于 FI 组,且 t2~t5 与前一检测时间点比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 5。



^a: $P < 0.05$, 与 FI 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与同组前一检测时间点比较。

图 5 两组肠球菌相对丰度比较

3 讨论

本研究低出生体重早产儿发生 FI 的中位时间为出生后第 2 天, FI 改善的中位时间为第 9 天。在时间上,本课题组设定 6 个检测时间点, t1 FI 组还未发生 FI,检测结果反映的是低体重出生的早产儿其肠道目标菌群是否存在差异。结果显示,除双歧杆菌外, FI 组乳酸杆菌、肺炎克雷伯菌、大肠杆菌、肠球菌相对丰

度与非 FI 组有差异($P < 0.05$),提示低出生体重早产儿在 FI 出现前,如有肠道菌群紊乱,某种益生菌不足,以及条件致病菌过多可能导致 FI。相关研究也发现,早产儿肠道菌群的定植模式异常,可导致 FI^[10-11]。因此,对于发生 FI 的低出生体重早产儿,能预防性使用益生菌干预,是否能减少其 FI 的发生,值得进一步研究。

双歧杆菌、乳酸杆菌和肠球菌是肠道益生菌^[7]。其中,双歧杆菌是人肠道中最重要的益生菌之一,在维持肠道菌群平衡、提高机体免疫中起重要作用。其肠道水平提升可修复损伤肠壁,降低受损肠壁的通透^[12-13]。乳酸杆菌可通过产生乳酸、细菌素及过氧化氢等抗菌物质抑制肠道有害菌的生长,进而起到保护肠道的作用^[14-15]。而肠球菌可通过与肠上皮细胞相互作用,减轻宿主的炎性反应,保护肠道^[8,16]。根据本研究结果,从入院第 7 天(t₂)开始,未发生 FI 的低出生体重早产儿肠道双歧杆菌水平高于前一时间点,而发生 FI 的低出生体重的早产儿肠道双歧杆菌水平直到 FI 改善后第 90 天均未增加,更未达到未发生 FI 者的水平。两组肠道该菌群的动态变化及差异提示,发生 FI 的低出生体重早产儿肠道部分益生菌水平的恢复需较长时间。

肺炎克雷伯菌和大肠杆菌属于消化道的条件致病菌。其中肺炎克雷伯菌可影响肠-脑轴的调节,扰乱肠道微生态平衡,导致肠上皮细胞损伤,抑制早产儿的消化吸收功能,易导致肠炎^[17]。大肠杆菌也可通过与人体细胞发生特异黏附、进而定居繁殖和产生肠毒素发挥致病作用^[8]。根据本研究结果,从 t₂ 开始,FI 组肠道肺炎克雷伯菌总体水平呈下降趋势,但直到 t₆ 才与非 FI 组水平无差异。而在大肠杆菌水平上,虽然 FI 组总体呈现下降趋势,但直到 t₆ 仍高于非 FI 组。这些均提示发生 FI 的低出生体重早产儿肠道条件致病菌水平的下降需要较长时间,考虑原因为发生 FI 的低出生体重早产儿住院时间长,缺乏各种益生菌的非母乳肠道营养支持。对于该群体,如在发生 FI 后,使用益生菌干预可能会改善其肠道菌群构成,减少其肠道营养时间,更早的回归正常喂养。

综上所述,低出生体重早产儿在 FI 出现前,肠道菌群紊乱可能导致 FI,而发生 FI 后,其肠道部分益生菌水平恢复及条件致病菌水平下降需要较长时间。本研究不足之处在于:(1)仅检测了具有代表性的 5 种细菌,未检测肠道菌群多样性,而有研究认为肠道菌群的多样性与新生儿坏死性小肠结肠炎及脓毒血症有关^[18-19]; (2)由于未能很好地控制影响因素,在整个动态观察期间,未能将研究对象肠道疾病与菌群水平进行相关性研究。

参考文献

- [1] HU X, CHANG Y, WANG Z, et al. Altered gut microbiota is associated with feeding intolerance in preterm infants [J]. *Turk J Pediatr*, 2021, 63(2):206-217.
- [2] BALDASSARRE M E, DI MAURO A, CAPOZZA M, et al. Dysbiosis and prematurity: is there a role for probiotics? [J]. *Nutrients*, 2019, 11(6):1273.
- [3] DANI C, CIARCIÀ M, LUZZATI M, et al. Feeding intolerance during phototherapy in preterm infants [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2021, 2021:1-5.
- [4] INDRIO F, DARGENIO V N, GIORDANO P, et al. Preventing and treating colic [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1125:49-56.
- [5] REINTAM BLASER A, DEANE A M, PREISER J C, et al. Enteral feeding intolerance: updates in definitions and pathophysiology [J]. *Nutr Clin Pract*, 2021, 36(1):40-49.
- [6] KWOK T C, DORLING J, GALE C. Early enteral feeding in preterm infants [J]. *Semin Perinatol*, 2019, 43(7):151159.
- [7] 何洋, 李文星, 唐军, 等. 早产儿喂养不耐受临床诊疗指南(2020) [J]. *中国当代儿科杂志*, 2020, 22(10):1047-1055.
- [8] 陈静, 方拴锋. 喂养不耐受早产儿肠道菌群的研究 [J]. *中国微生物学杂志*, 2018, 30(4):398-401.
- [9] 唐小丽, 余加林, 艾青, 等. 肠道菌群多样性在喂养不耐受新生儿中的作用 [J]. *第三军医大学学报*, 2014, 36(20):2133-2137.
- [10] KAPOURCHALI F R, CRESCI G A M. Early-life gut microbiome-the importance of maternal and infant factors in its establishment [J]. *Nutr Clin Pract*, 2020, 35(3):386-405.
- [11] HEALY D B, RYAN C A, ROSS R P, et al. Clinical implications of preterm infant gut microbiome development [J]. *Nat Microbiol*, 2022, 7(1):22-33.
- [12] 任建东, 李军, 严洁, 等. 晚期早产儿喂养不耐受肠道菌群研究 [J]. *临床儿科杂志*, 2020, 38(4):255-259.

- Rev, 2018, 2; D11415.
- [10] BORCHERS F, SPIES C D, FEINKOHL I, et al. Methodology of measuring postoperative cognitive dysfunction: a systematic review[J]. *Br J Anaesth*, 2021, 126(6): 1119-1127.
- [11] NASS K J, ZWAGER L W, VAN DERVLUGT M, et al. A novel classification for adverse events in gastrointestinal endoscopy: the A-GREE classification[J]. *Gastrointest Endosc*, 2021, 95(6): 1078-1085.
- [12] TANG Y, ANANDASABAPATHY S, RICHARDS-KORTUM R. Advances in optical gastrointestinal endoscopy: a technical review[J]. *Mol Oncol*, 2021, 15(10): 2580-2599.
- [13] SONNENBERG A, BAKIS G. The “unknown unknowns” of gastrointestinal endoscopy[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2023, 21(1): 234-235.
- [14] XIA L, LIU L, HONG X, et al. One-day tropisetron treatment improves cognitive deficits and P50 inhibition deficits in schizophrenia[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2020, 45(8): 1362-1368.
- [15] DIVANBEIGI A, NASEHI M, VASEGHI S, et al. Tropisetron but not granisetron ameliorates spatial memory impairment induced by chronic cerebral hypoperfusion [J]. *Neurochem Res*, 2020, 45(11): 2631-2640.
- [16] MIRSHAF A, MOHAMMADI H, SHOKRZ ADEH M, et al. Tropisetron protects against brain aging via attenuating oxidative stress, apoptosis and inflammation: the role of SIRT1 signaling[J]. *Life Sci*, 2020, 248: 117452.
- [17] YU Y, ZHU W, LIANG Q, et al. Tropisetron attenuates lipopolysaccharide induced neuroinflammation by inhibiting NF-kappaB and SP/NK1R signaling pathway[J]. *J Neuroimmunol*, 2018, 320: 80-86.
- [18] KARIMOLLAH A, HEMMATPUR A, HOSSEINI N, et al. Tropisetron balances immune responses via TLR2, TLR4 and JAK2/STAT3 signalling pathway in LPS-stimulated PBMCs [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2021, 128(5): 669-676.
- [19] SHIEE M R, KIA E B, ZAHABIUN F, et al. In vitro effects of tropisetron and granisetron against *Echinococcus granulosus* (s. s.) protozoa by involvement of calcineurin and calmodulin[J]. *Parasit Vectors*, 2021, 14(1): 197.

(收稿日期: 2022-06-11 修回日期: 2022-09-26)

(上接第 675 页)

- [13] 贺锐, 韩璐, 张丽秀, 等. 低出生体重儿肠道微生物构建影响因素的动态监测[J]. *中国微生物学杂志*, 2018, 30(7): 755-760.
- [14] SALVETTI E, O'TOOLE P W. The genomic basis of lactobacilli as health-promoting organisms[J]. *Microbiol Spectr*, 2017, 5(3): BAD-0011-2016.
- [15] WU H, XIE S, MIAO J, et al. *Lactobacillus reuteri* maintains intestinal epithelial regeneration and repairs damaged intestinal mucosa[J]. *Gut Microbes*, 2020, 11(4): 997-1014.
- [16] HE Y, YANG Q, TIAN L, et al. Protection of surface layer protein from *Enterococcus faecium* WEFA23 against *Listeria monocytogenes* CMCC54007 infection by modulating intestinal permeability and immunity[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2021, 105(10): 4269-4284.
- [17] BUDDEN K F, GELLATLY S L, WOOD D L, et al. Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2017, 15(1): 55-63.
- [18] TIRONE C, PEZZA L, PALADINI A, et al. Gut and lung microbiota in preterm infants: immunological modulation and implication in neonatal outcomes[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2910.
- [19] LEE J K, HERN TAN L T, RAMADAS A, et al. Exploring the role of gut bacteria in health and disease in preterm neonates[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17(19): 6963.

(收稿日期: 2022-04-15 修回日期: 2022-10-08)