

· 论著 ·

新生儿过敏性结肠炎肠道菌群变化及其与肠梗阻的关系分析

上官绪鹏 邓彩艳 于凤琴 王广州*
郑州市妇幼保健院新生儿科(河南 郑州 450000)

【摘要】目的 探讨新生儿过敏性结肠炎(AC)肠道菌群变化情况及其与肠梗阻的关系。**方法** 选取2018年1月至2022年8月本院收治的228例确诊为AC的新生儿作为研究组,另以胎龄、出生体质量、日龄1:1匹配同时期在本院体检的228例健康新生儿作为对照组。采集研究组患儿确诊AC当天(对照组体检当天)自然排泄粪便样本,采用16S rDNA荧光定量多聚酶链式反应(PCR)技术对2组粪便样本中的主要肠道菌群(双歧杆菌、乳酸杆菌、大肠杆菌、肠球菌、拟杆菌属、酵母菌)进行分析比较。统计研究组AC新生儿治疗期间并发肠梗阻的情况,比较肠梗阻患儿与无肠梗阻患儿主要肠道菌群的分布情况,并采用Logistic回归分析AC患儿肠道菌群变化与肠梗阻之间的关系。**结果** 研究组新生儿肠道中双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌含量低于对照组($P<0.05$);大肠杆菌、肠球菌含量高于对照组($P<0.05$);酵母菌含量与对照组对比无统计学差异($P>0.05$);228例AC患儿在治疗期间肠梗阻的发生率为17.98%(41/228);Logistic回归分析显示,AC患儿肠道中大肠杆菌、肠球菌的含量高为其发生肠梗阻的独立危险因素($P<0.05$),双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌的含量高为保护因素($P<0.05$)。**结论** AC新生儿的肠道中的双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌含量降低,大肠杆菌、肠球菌含量升高,且以上肠道菌群变化均是AC患儿发生肠梗阻的影响因素。

【关键词】 过敏性结肠炎;新生儿;肠道菌群;肠梗阻

【中图分类号】 R722.1

【文献标识码】 A

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2024.8.043

Changes of Intestinal Flora in Neonates with Allergic Colitis and Analysis of Its Relationship with Intestinal Obstruction

SHANG GUAN Xu-peng, DENG Cai-yan, YU Feng-qin, WANG Guang-zhou*.
Department of Neonatology, Women and Infants Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450000, Henan Province, China

Abstract: Objective To explore the changes of intestinal flora in neonates with allergic colitis (AC) and its relationship with intestinal obstruction. **Methods** 228 neonates diagnosed as AC in our hospital from January 2018 to August 2022 were selected as the study group, and 228 healthy neonates matched with the ratio of 1:1 by gestational age, birth weight and day age who had physical examination in our hospital at the same time were selected as the control group. The natural fecal samples of the children were collected on the day of diagnosis of AC in the study group (on the day of physical examination in the control group), and 16S rDNA fluorescence quantitative polymerase chain reaction (PCR) was used to analyze and compare the main intestinal flora (Bifidobacteria, Lactobacillus, Escherichia coli, Enterococcus, Bacteroides, Yeast) in two groups of fecal samples. The concurrency of intestinal obstruction in the AC neonates of the study group during treatment was counted, and the distribution of the main intestinal flora were compared between the children with or without intestinal obstruction. Logistic regression was used to analyze the relationship between the changes of intestinal flora and intestinal obstruction in the children with AC. **Results** The content of Bifidobacterium, Lactobacillus and Bacteroides in intestinal tract of neonates in the study group was lower than that in the control group ($P<0.05$), while the content of Escherichia coli and Enterococcus in the study group was higher than that in the control group ($P<0.05$), but there was no significant difference in content of Yeast between the control group and the control group ($P>0.05$). The incidence rate of intestinal obstruction in 228 children with AC during treatment was 17.98% (41/228). Logistic regression analysis showed that high levels of Escherichia coli and Enterococcus were independent risk factors for intestinal obstruction in children with AC ($P<0.05$), but high levels of Bifidobacterium, Lactobacillus and Bacteroides were protective factors ($P<0.05$). **Conclusion** In intestinal tract of neonates with AC, the content of Bifidobacterium, Lactobacillus and Bacteroides decrease while the content of Escherichia coli and Enterococcus increase. The changes of above intestinal flora are the influencing factors of intestinal obstruction in neonates with AC.

Keywords: Allergic Colitis; Neonates; Intestinal Flora; Intestinal Obstruction

过敏性结肠炎(AC)是一种在新生儿群体中常见的肠道疾病,是由于宿主对摄入蛋白成分过敏而引发的一种以直肠、结肠炎性病变为特征的疾病,临床常表现出腹泻、便秘、哭闹不止等现象,部分患儿会出现营养不良、贫血等症状^[1]。肠梗阻是婴幼儿常见的急腹症,也是结肠炎常见并发症之一,其发病急、进展快,严重时可在短期内引发梗阻部位血液循环障碍并继发肠壁穿孔、坏死等症,严重威胁着AC患儿的健康与生命^[2-3]。有研究表明^[4-5],新生儿多种肠道疾病的发生均与肠道菌群失调密切相关,因为肠道菌群失调会破坏新生儿尚未成熟的肠道黏膜屏障,引发肠道黏膜损伤,诱发多种肠道疾病,故研究肠道疾病患儿肠道菌群的变化情况一直是临床研究的重点。然而,目前却鲜有关于AC新生儿肠道菌群变化及其与发生肠梗阻的关系报道。鉴于此,本研究特对比AC新生儿与健康新生儿肠道菌群情况,并对AC患儿肠道菌群变化与发生肠梗阻的关系进行探讨,以期对新生儿AC并发肠梗阻的防治提供参考文献,详情如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 经医院伦理委员会批准,选取2018年1月至2022年8月本院收治的228例确诊为AC的新生儿作为研究组,另以胎龄、出生体质量与日龄1:1匹配同时期在本院体检的228例健康新生儿作为对照组。

纳入标准:日龄均 ≤ 28 d;研究组均满足AC的诊断标准^[6];对照组体检指标均正常;家属均对本研究知情同意。排除标准:合并其他消化系统疾病;合并先天性疾病、血液系统疾病、神经功能障碍者;合并其它急性慢性感染性疾病;合并外科急腹症。研究组中男142例,女86例;胎龄34~39周,平均(37.41 $\pm$ 1.52)周;出生体质量2.27~3.16kg,平均(2.73 $\pm$ 0.35)kg;日龄2~27d,平均(14.59 $\pm$ 4.26)d;顺产152例,剖宫产76例;母乳喂养136例,配方奶粉喂养92例。对照组中男144例,女84例;胎龄33~39周,平均(37.47 $\pm$ 1.19)周;出生体质量2.21~3.20kg,平均(2.76 $\pm$ 0.33)kg;日龄2~28d,平均(14.62 $\pm$ 4.23)d;顺产149

【第一作者】上官绪鹏,男,住院医师,主要研究方向:新生儿危重症。E-mail: shangguanxupeng9@163.com

【通讯作者】王广州,男,主任医师,主要研究方向:新生儿重症。E-mail: 15225152290@163.com

例，剖宫产79例；母乳喂养134例，配方奶粉喂养94例。研究组与对照组的性别、胎龄、出生体质量、日龄、生产方式、喂养方式对比均无统计学差异($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 AC诊断 均参照《过敏性结肠炎的诊治规范》^[6]中AC的诊断标准进行：行双盲安慰剂对照的食物激发试验进行诊断；对于有病史、有典型AC内镜特征、血红蛋白下降、外周血嗜酸性粒细胞增高等患者，行结肠镜检查与结肠黏膜组织活检辅助检查。

1.2.2 肠道菌群检测方法 (1)取样：研究组于确诊AC当天(对照组于体检当天)取新生儿新鲜大便样本3g于无菌离心管中，并于-80℃下保存备用；(2)肠道菌群DNA提取：大便样本于室温下融冻后取0.2g，用DNA缓冲液处理后取200μl上清液，然后使用TIAN amp Bacteria DNA Kit提取样本中细菌DNA。(3)荧光定量PCR反应：使用荧光定量PCR仪(GeneAmp PCR system 5700型)进行扩增，条件如下：95℃预变性5min，95℃15s，60℃1min，72℃45s，87℃5s，共40个循环；最后72℃10min延伸至结束，在荧光曲线上读取荧光信号的初始循环数。(4)DNA纯化：向上述DNA液中加入乙酸钠溶液，振荡混匀，然后加无水乙醇并混匀，置于干冰上0.5h后离心5min，取沉渣并加入乙醇，混匀，再次离心留沉渣，室温下干燥后加入50μl的TE缓冲液溶解，采用分子生物学专用分光光度计(德国Eppendorf)测定细菌纯化产物的A值。(5)标准曲线制作：取准确定量的标准细菌做10倍系列稀释后，按照前述的DNA提取、扩增、纯化等步骤获取50μl的TE缓冲液溶解的DNA溶液，用分光光度计测定DNA液的A值，参照分子克隆，1A值相当于 4.74×10^{13} 分子，计算出标准菌株DNA模板浓度；以不同拷贝数的阳性模板的对数为横坐标，以PCR反应过程中出现荧光信号的初始循环数作为纵坐标绘制标准曲线，将样本荧光定量PCR结果与标准曲线进行对比，即可获取细菌对应的DNA模板数量。

1.2.3 肠梗阻诊断 AC患儿治疗期间有拒食、胆汁性呕吐、腹痛、

腹胀、排气排便停止或延迟等肠梗阻症状，进一步行腹部彩超、腹部立位平片等辅助检查确诊肠梗阻^[7]。

1.3 观察指标

- 1.3.1比较对照组与研究组新生儿肠道菌群定量结果。
- 1.3.2研究组新生儿肠梗阻发生情况。
- 1.3.3肠梗阻患儿与无肠梗阻患儿肠道菌群定量结果比较。
- 1.3.4采用Logistic回归分析AC新生儿肠道菌群情况与肠梗阻之间的相关性。

1.4 统计学方法 统计学处理采用SPSS 25.0软件，计量资料以“(x±s)”表示，采用t检验；计量资料以频数表示，采用检验；AC新生儿肠道菌群情况与肠梗阻之间的相关性采用Logistic回归分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 比较对照组与研究组新生儿肠道菌群定量结果 研究组新生儿肠道中双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌含量低于对照组($P<0.05$)；大肠杆菌、肠球菌含量高于对照组($P<0.05$)；酵母菌含量与对照组对比无统计学差异($P>0.05$)，见表1。

2.2 研究组新生儿肠梗阻发生情况以及有无肠梗阻患儿肠道菌群定量结果比较 研究组228例AC患儿在治疗期间共有41例并发肠梗阻，肠梗阻发生率为17.98%(41/228)。肠梗阻患儿肠道中双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌含量低于无肠梗阻患儿($P<0.05$)；大肠杆菌、肠球菌含量高于无肠梗阻患儿($P<0.05$)；酵母菌含量与无肠梗阻患儿对比无统计学差异($P>0.05$)，见表2。

2.3 AC新生儿肠道菌群情况与肠梗阻之间相关性的Logistic回归分析 将表2中 $P<0.05$ 的菌群纳入自变量，将有无肠梗阻纳入因变量，进行Logistic回归分析，分析结果显示，AC患儿肠道中大肠杆菌、肠球菌的含量高为AC患儿发生肠梗阻的独立危险因素($P<0.05$)，双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌的含量高为保护因素($P<0.05$)，见表3。

表1 对照组与研究组新生儿肠道菌群定量结果比较[Lg(拷贝数/g)]

菌群	对照组(n=228)	研究组(n=228)	t值	P值
双歧杆菌	8.61±1.35	6.92±1.28	13.717	<0.001
乳酸杆菌	9.24±1.31	7.63±0.95	15.023	<0.001
大肠杆菌	7.39±1.17	7.82±1.26	3.776	0.002
肠球菌	6.12±0.97	7.36±1.74	9.399	<0.001
拟杆菌	7.43±1.29	6.47±1.23	8.133	<0.001
酵母菌	5.35±1.57	5.39±1.44	0.284	0.777

表2 肠梗阻与无肠梗阻患儿肠道菌群定量结果比较[Lg(拷贝数/g)]

菌群	肠梗阻患儿(n=41)	无肠梗阻患儿(n=187)	t值	P值
双歧杆菌	5.71±1.22	7.19±1.37	6.383	<0.001
乳酸杆菌	6.86±0.90	7.80±1.13	4.988	<0.001
大肠杆菌	8.54±1.36	7.66±1.19	4.177	<0.001
肠球菌	8.24±1.84	7.17±1.68	3.630	<0.001
拟杆菌属	5.71±1.15	6.64±1.29	4.259	<0.001
酵母菌	5.31±1.47	5.41±1.45	0.399	0.690

表3 Logistic回归分析

因素	β	SE	Wald	P	OR	95%CI
双歧杆菌	-0.851	0.243	12.264	<0.001	0.427	0.194~0.803
乳酸杆菌	-0.794	0.256	9.620	0.001	0.452	0.217~0.854
大肠杆菌	1.157	0.462	6.272	0.011	3.180	2.274~4.086
肠球菌	1.019	0.459	4.929	0.037	2.770	1.870~3.670
拟杆菌属	-0.729	0.271	7.236	0.005	0.482	0.291~0.893

3 讨论

肠道菌群是指定植于胃肠道中的微生物群体,种类超过1000种,肠道菌群影响着多种激素的分泌与释放,对机体的营养供应、生理状态等有着重要的影响^[8],有益菌与有害菌通过相互依存、制约维持菌群的平衡,保障宿主的肠道环境生态平衡^[9]。AC患儿的肠道发生炎症病变,肠壁组织受到了严重的损坏,肠上皮细胞受损,使得肠上皮细胞消化液大量丢失,化学屏障性能削弱,打破了肠道菌群的平衡,使得益生菌的粘附作用削弱,加之腹泻过程使肠道内容物快速排出肠腔,携带大量益生菌排出体外,故而肠道中益生菌的含量会明显减少;同时肠粘膜屏障受损,有利于有害菌的定植与侵入,故而肠道有害菌的数量会增加^[10-11]。双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌可调节肠道黏膜的免疫功能,抑制病原菌定植,是肠道中重要的益生菌,而大肠杆菌、肠球菌是常见的条件致病菌。本研究发现研究组新生儿肠道中双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌含量低于对照组,大肠杆菌、肠球菌含量高于对照组,酵母菌含量与对照组接近,表明AC会导致新生儿肠道中的双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌含量下降,大肠杆菌、肠球菌含量上升,对酵母菌含量影响不大,此与叶佳等^[12]报道的溃疡性结肠炎患者的肠道双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌含量上升,大肠杆菌、肠球菌含量下降的结果一致,证实了肠道炎症会引起肠道菌群改变。

AC引发的肠道病变极易使肠壁损伤、出血,引发淋巴样组织增生,从而导致肠道梗阻,而AC患儿一旦并发肠梗阻,则会增加治疗难度与死亡风险。本研究中AC新生儿肠梗阻发生率为17.98%,经Logistic回归分析结果显示,肠道中大肠杆菌、肠球菌的含量高为AC患儿发生肠梗阻的独立危险因素,双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌的含量高为保护因素。肠梗阻是指肠内容物在肠道内的正常运行或通过发生了障碍,有研究表明^[13],肠道菌群的失衡破坏了肠粘膜屏障,会促进肠梗阻进展,而肠粘膜屏障的损坏会进一步导致肠道菌群失调,如此形成恶性循环,加重肠梗阻的进展。双歧杆菌与乳酸杆菌是定植于肠道的益生菌,其与致病菌竞争肠道上皮细胞位点,与肠道上皮细胞结合形成保护层,可促进肠道菌群定植及优势化、促进抗炎细胞因子的产生、抑制炎症因子表达,促进上皮细胞肌动蛋白和咬合蛋白的磷酸化,使肠道上皮细胞间的连接更紧密,保障肠道黏膜屏障的完整,可防止有害菌侵袭与定植;并且其降解产物可通过受体调节促进对肠上皮细胞具有保护作用的肠道黏蛋白的分泌,维持肠粘膜屏障功能的稳定;拟杆菌是肠道优势菌群,其定植可抑制其它有害菌群的粘附,其可促进肠粘膜血管的形成,可与免疫球蛋白结合并定植于肠上皮,提高宿主的免疫力,维持肠道微环境平衡^[14-15]。双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌含量下降,会导致其与肠粘膜结合形成的生物膜无法抵御致病菌的侵袭,从而使大肠杆菌、肠球菌等兼性厌氧菌快速增殖分化并分泌释放大量的外毒素,加重肠道炎症反应以及免疫功能障碍,增加了肠道发生梗阻的风险^[16]。大肠杆菌、肠球菌是常见的条件致病菌,可突破定植抗力,影响紧密连接蛋白的表达,增加上皮细胞通透性,破坏肠粘膜屏障,促进炎症因子释放,导致肠上皮细胞死亡,引起肠内黏膜血管炎症与局部组织缺血坏死,其含量升高会增加肠梗阻发生的风险^[17]。

综上所述,AC新生儿肠道中双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌含量低于健康新生儿,大肠杆菌、肠球菌含量高于健康新生儿,且上述菌群变化均是AC患儿并发肠梗阻的影响因素,建议临床上加强对AC新生儿肠道菌群的监测力度,并及时进行干预调控,以维持新生儿肠道环境的健康稳定、降低肠梗阻发生风险。

参考文献

- [1] 邢东文,符艺影,王华,等.猴耳环消炎颗粒辅助治疗婴幼儿过敏性结肠炎对肠内环境的影响[J].临床和实验医学杂志,2020,19(14):1504-1507.
- [2] 肖田,刘俊,罗艳梅,等.肠梗阻手术联合肠内营养对十二指肠肠先天性梗阻新生儿肠功能和营养状态的影响[J].中国现代医学杂志,2022,32(20):60-65.
- [3] 周妙平,刘一明,卢水福,等.特发性肠系膜动脉硬化性结肠炎14例的临床、影像学和内镜特征分析[J].中华消化杂志,2022,42(1):36-41.
- [4] Huang S, He J, Chen Y, et al. Effect of Huangqin decoction on regulating intestinal flora in colitis mice characterized as inhibition of the NOD2-dependent pathway[J]. Pharm Biol, 2022, 60(1): 108-118.
- [5] 陈威,杨荣存.肠道菌群失衡在炎症性肠病发生和发展中的作用[J].中华消化杂志,2019,39(1):64-67.
- [6] 张金坤.过敏性结肠炎的诊治规范[J].苏州医学,2011,34(1):7-8.
- [7] 吕云福.肠梗阻诊断治疗学[M].北京:人民卫生出版社,2007:34-51.
- [8] 杨宏,张铭光,王治东,等.血清免疫炎症相关蛋白复合物、25-羟维生素D、脂肪细胞因子与炎症性肠病患者疾病活动性和肠道菌群的相关性研究[J].现代生物医学进展,2022,22(14):2653-2657.
- [9] 毕玉晶,杨瑞霞.人体肠道微生物群、营养与健康[J].科学通报,2019,64(3):260-271.
- [10] 孙艳君,杨锐,贾胜男,等.肠道菌群与炎症性肠病的相关性探讨[J].中国实验诊断学,2017,21(2):358-360.
- [11] 王统悦,刘魏铭,张量,等.足月儿和晚期早产儿坏死性小肠结肠炎肠道菌群变化情况[J].中国妇幼保健,2021,36(16):3748-3751.
- [12] 叶佳,朱梅萍,刘畅.溃疡性结肠炎患者肠道菌群紊乱与Th17/Treg平衡及相关细胞因子的关系[J].中国医药导报,2021,18(16):86-90.
- [13] 谢小丰,葛建君,李介秋,等.微生态制剂对绞窄性肠梗阻肠道菌群失调的治疗[J].中国医药导刊,2014,16(6):1024-1025.
- [14] Camilleri M. Human intestinal barrier: effects of stressors, diet, prebiotics, and probiotics. Clin Transl Gastroenterol[J]. Clin Transl Gastroenterol, 2021, 12(1): e00308.
- [15] Serek P, Oleksy-Wawrzyniak M. The effect of bacterial infections, probiotics and zonulin on intestinal barrier integrity[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(21): 11359.
- [16] 王超越,韩璐,吴正钧,等.益生菌对宿主肠道屏障功能的影响[J].食品与发酵工业,2022,48(15):309-315.
- [17] 俞静云,徐鸽,王六燕.迁延性腹泻患儿肠道菌群分布和肠黏膜屏障功能变化[J].中国妇幼保健,2021,36(6):1308-1310.

(收稿日期:2023-02-25)

(校对编辑:翁佳鸿)