

基于 16S rRNA 测序技术分析呼吸机相关性肺炎患者粪便与肺泡灌洗液菌群的相关性

雷萌萌¹ 张小亚² 杨小娟² 景佩¹ 杨明月¹ 杨晓军²

¹宁夏医科大学临床医学院, 银川 750004; ²宁夏医科大学总医院重症医学科, 银川 750004

通信作者: 杨晓军, Email: yxjicu@163.com

【摘要】目的 探讨呼吸机相关性肺炎(VAP)患者肠道和肺部微生态结构变化及其之间的相关性。**方法** 采用前瞻性观察性研究方法, 纳入2019年5月1日至2020年5月1日入住宁夏医科大学总医院重症医学科的31例VAP患者, 收集患者同一天的粪便及肺泡灌洗液样本, 利用16S rRNA测序技术对粪便和肺泡灌洗液样本进行菌群组成及结构的生物学信息分析, 综合测序结果及患者临床资料进行统一分析。**结果** ① VAP患者肺泡灌洗液中菌群 α 多样性(丰度及多样性)较粪便菌群增高, 其中描述菌群丰度的Ace指数、Chao指数及描述多样性的Shannon指数差异有统计学意义[Ace指数: 305.89(214.39, 458.66)比204.51(165.15, 247.61), Chao指数: 259.83(194.20, 459.31)比187.67(153.28, 234.01), Shannon指数: 3.01(2.39, 3.54)比2.55(1.86, 2.95), 均 $P < 0.05$], 描述多样性的Simpson指数差异无统计学意义[0.14(0.08, 0.27)比0.19(0.10, 0.33), $P > 0.05$]。② 在VAP患者粪便及肺泡灌洗液测序结果中均存在一些肠道相关菌群, 如大肠杆菌属、粪肠杆菌属、拟杆菌属及毛螺菌属等, 且丰度均较高。③ 31例VAP患者中有20例肺泡灌洗液临床培养发现可疑致病菌, 分别为草绿色链球菌6例、大肠杆菌5例、肺炎克雷伯菌3例、鲍曼不动杆菌3例、金黄色葡萄球菌2例、铜绿假单胞菌1例, 且与对应的肺泡灌洗液测序一致, 其中17例患者粪便测序中也存在这种可疑致病菌。④ 14例患者合并脓毒症, 从未发生脓毒症的患者中选取14例进行样本量匹配, 结果显示, VAP合并脓毒症组描述肺-肠菌群相关性的Jaccard相似性指数较VAP组显著升高, 差异有统计学意义(0.24 ± 0.08 比 0.19 ± 0.06 , $P < 0.01$)。**结论** VAP患者存在一定的肺-肠菌群相关性, 在排除来源于环境和上呼吸道微吸入导致的肺部感染外, 仍有一部分感染源可能来自于下消化道。

【关键词】 呼吸机相关性肺炎; 肺泡灌洗液; 肠道菌群; 16S rRNA; 细菌移位; 肺-肠菌群相似度
基金项目: 十三五国家重点研发计划项目(2016YFD0400605)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20201010-00662

Analysis of correlation between fecal and alveolar lavage fluid flora of ventilator-associated pneumonia patients based on 16S rRNA sequencing technology

Lei Mengmeng¹, Zhang Xiaoya², Yang Xiaojuan², Jing Pei¹, Yang Mingyue¹, Yang Xiaojun²

¹School of Clinical Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China;

²Department of Critical Care Medicine, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China

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

【Abstract】Objective To investigate the changes and correlation of intestinal and pulmonary microecological structures in patients with ventilator-associated pneumonia (VAP). **Methods** A prospective observational study was conducted. Thirty-one patients with VAP admitted to the department of critical care medicine of General Hospital of Ningxia Medical University from May 1st 2019 to May 1st 2020 were enrolled. Feces and alveolar lavage fluid samples from patients with the same day, feces and alveolar lavage specimen flora composition and the structure of biological information analysis by 16S rRNA sequencing technologies, the comprehensive sequencing results, and clinical data of patients were analyzed. **Results** ① The diversity (abundance and diversity) of flora in the alveolar lavage fluid of VAP patients was higher than that of fecal flora. Among them, Ace index, Chao index and Shannon index describing the abundance of flora showed statistically significant differences [Ace index: 305.89 (214.39, 458.66) vs. 204.51 (165.15, 247.61), Chao index: 259.83 (194.20, 459.31) vs. 187.67 (153.28, 234.01), Shannon index: 3.01 (2.39, 3.54) vs. 2.55 (1.86, 2.95), all $P < 0.05$], but there was no significant difference in Simpson index describing diversity [0.14 (0.08, 0.27) vs. 0.19 (0.10, 0.33), $P > 0.05$]. ② In the sequencing results of feces and alveolar lavage fluid of VAP patients, there were some intestinal related bacteria groups with high abundance, such as *Escherichia-Shigella*, *Faecalibacterium*, *Bacteroides*, and *Lachnospira*, etc. ③ In 31 VAP patients, suspicious pathogenic bacteria was found in 20 cases (6 cases of *Streptococcus viridans*, 5 cases of *Escherichia coli*, 3 cases of *Klebsiella pneumoniae*, 3 cases of *Acinetobacter baumannii*, 2 cases of *Staphylococcus aureus*, 1 case of *Pseudomonas aeruginosa*), and the same suspected pathogens also existed in the 17 patients' alveolar lavage and waste sequencing. ④ Fourteen VAP patients combined with sepsis, 14 patients without sepsis were selected for sample size matching. The results showed that,

Jaccard similarity index to describe lung-correlation of intestinal flora in VAP with sepsis group was significantly elevated, and the difference was statistically significant (0.24 ± 0.08 vs. 0.19 ± 0.06 , $P < 0.01$). **Conclusions** There is a certain correlation between pulmonary and intestinal flora in VAP patients. In addition to the exclusion of pulmonary infection caused by environmental and upper respiratory micro-inhalation, the lower digestive tract may also be source of infection.

【Key words】 Ventilator-associated pneumonia; Alveolar lavage fluid; Intestinal flora; 16S rRNA; Bacterial translocation; Lung-intestinal flora similarity

Fund program: National Basic Research Program of China during the 13th Five-Year Plan Period (2016YFD0400605)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20201010-00662

据文献报道,机械通气患者呼吸机相关性肺炎(ventilator-associated pneumonia, VAP)发生率可高达65%,发生VAP的患者通气时间、住院时间及住院费用均增加,且VAP病死率高达50%左右^[1]。传统上认为,在因呼吸衰竭需行有创机械通气的患者中,致病微生物主要来源于口腔菌群。因此,重症监护病房(intensive care unit, ICU)采用“呼吸机集束化治疗”,包括降低吸入性的干预措施,如床头抬高、口腔护理和间断吸痰以及经验性抗感染治疗^[2-3]。尽管采取了这些干预措施,院内获得性肺炎仍然是ICU患者住院期间的常见并发症,严重影响了危重患者的预后。所以在目前精准医疗的大环境下,明确肺部病原菌及其来源对指导抗菌药物使用至关重要。在关于脓毒症、急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)的研究中,有学者利用非培养性方法发现了肠道相关细菌富集的情况,主要以拟杆菌和肠杆菌科为代表^[4]。这提示可能存在一种微生物转移的共同机制,在危重症患者肺部感染中起着决定性作用。但VAP患者是否也存在这样的发病机制尚不清楚。本研究中通过收集重症医学科VAP患者肺泡灌洗液及粪便样本,基因测序分析肺部菌群及肠道菌群之间的关系,为VAP患者抗感染治疗提供线索。

1 资料与方法

1.1 病例的纳入及排除标准:采用前瞻性观察性研究方法,纳入2019年5月1日至2020年5月1日入住宁夏医科大学总医院ICU诊断为VAP的患者。

1.1.1 纳入标准:①诊断标准参考2018年版中国成人VAP诊断及治疗指南^[3];②家属同意进行纤维支气管镜(纤支镜)治疗。

1.1.2 排除标准:①年龄<18周岁;②插管前或插管时有明显误吸病史者;③存在慢性呼吸道疾病。

1.2 伦理学:本研究符合医学伦理学标准,获得宁夏医科大学总医院医学科研伦理审查委员会批准(审批号:2019-386),入组前均得到患者或直系亲属

知情同意,并签署知情同意书。

1.3 样本采集:收集VAP患者同一天的肺泡灌洗液、粪便样本,统一冻存。①肺泡灌洗液样本:经气管插管/气切套管行纤支镜肺泡灌洗,每位患者收集2份样本,每份10~15 mL,置于液氮罐中运送至样本库-80℃冰箱保存。②粪便样本:采用盐水/开塞露灌肠或自主排便后从新鲜粪便深处取材,统一收至粪便样本盒中,每位患者收集2份样本,置于液氮罐中运送至样本库-80℃冰箱保存。

1.4 实验方法及流程:所有样本的16S rDNA测序由上海慕柏生物医学科技有限公司完成。通过冷冻分装、核酸获取与质检、聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增及产物纯化、文库制备与库检、测序(使用Illumina Miseq平台)等流程处理后,将数据进行物种组成分析、多样性分析、差异和关联分析以及统计学处理。

1.5 生物信息学群落分析:所有样本的有效序列均以97%的相似性对非重复序列进行操作分类单位(operational taxonomic unit, OTU)聚类,进一步对本菌群的组成信息进行分析。菌群的 α 多样性分析包括丰度和多样性描述,菌群丰度指数包括Ace指数和Chao指数,指数越大代表样本中物种数量越多;多样性指数包括Shannon指数和Simpson指数,Shannon指数越大、Simpson指数越小,说明样本群落多样性越高。

1.6 统计学方法:使用SPSS 25.0软件对数据进行统计分析。连续性变量均先进行正态性检验及方差齐性检验,正态分布数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示;菌群丰度指数及多样性指数均为非正态分布,遂采用中位数(四分位数)[$M(Q_L, Q_U)$]表示,组间比较采用Wilcoxon秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料(表1):共纳入31例VAP患者,其中男性27例,女性4例;年龄19~89岁,平均

(58.16±15.56)岁。所有患者均接受常规抗菌药物治疗,包括哌拉西林舒巴坦钠、头孢哌酮钠舒巴坦钠、美罗培南及亚胺培南等广谱抗菌药物;患者均进行床头抬高30°预防反流。

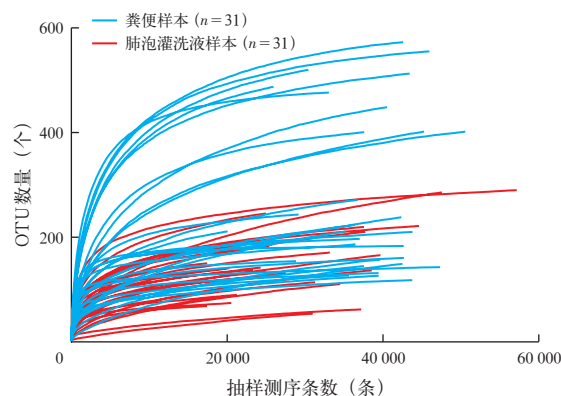
表1 31例VAP患者一般资料

指标	数值 [例(%)]	指标	数值 [例(%)]
性别 男性	27(87.1)	主要诊断 VAP	17(54.8)
女性	4(12.9)	VAP + 脓毒症	14(45.2)
年龄 <40岁	3(9.7)	抗菌药物使用	
40~70岁	21(67.7)	碳青霉烯类	18(58.1)
>70岁	7(22.6)	头孢菌素类	1(3.2)
手术方式		β内酰胺类/酶抑制剂	24(77.4)
脊柱四肢手术	6(19.3)	氨基糖苷类	3(9.7)
胸部手术	2(6.5)	甘氨酸环素类	4(12.9)
腹部手术	11(35.5)	糖肽类	11(35.5)
未行手术	10(32.2)	噁唑烷酮类	5(16.1)
其他手术	2(6.5)	喹诺酮类	3(9.7)
住院时间		其他	10(32.2)
<10d	11(35.5)	预后 好转	22(71.0)
10~30d	17(54.8)	自动出院	5(16.1)
>30d	3(9.7)	死亡	4(12.9)

注:VAP为呼吸机相关性肺炎

2.2 菌群稀释性曲线:菌群稀释性曲线是指从实验样本中随机提取一定量的样本,统计这些样本所含的物种数目,并以样本数与物种数来构建曲线。它可以用来比较测序数据量不同的样本中物种的丰富度,也可以用来说明样本的测序数据量是否合理。图1显示,当样本量逐渐增加到一定量后曲线趋向平坦,说明测序数据量合理,更多的数据量只会产生少量新的OTU。因此,稀释性曲线可得出样本有足够的数量,可基本达到样本的测序深度。

2.3 粪便及肺泡灌洗液样本的菌群α多样性(表2):VAP患者肺泡灌洗液中菌群α多样性较粪便菌群增高,描述菌群丰度的Ace指数、Chao指数及描述多样性的Shannon指数差异有统计学意义(均 $P<0.05$),而描述多样性的Simpson指数差异无统计学意义($P>0.05$)。



注:VAP为呼吸机相关性肺炎,OTU为操作分类单位

图1 31例VAP患者粪便及肺泡灌洗液样本在97%相似水平下的菌群稀释性曲线

表2 31例VAP患者粪便及肺泡灌洗液中菌群α多样性比较 [$M(Q_L, Q_U)$]

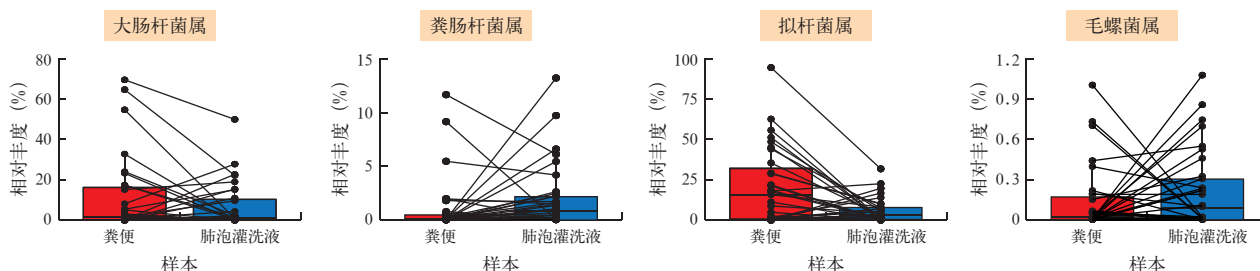
样本	样本量 (份)	菌群丰度指数	
		Ace 指数	Chao 指数
粪便	31	204.51 (165.15, 247.61)	187.67 (153.28, 234.01)
肺泡灌洗液	31	305.89 (214.39, 458.66)	259.83 (194.20, 459.31)
Z 值		-3.767	-3.107
P 值		<0.001	0.002

样本	样本量 (份)	多样性指数	
		Shannon 指数	Simpson 指数
粪便	31	2.55 (1.86, 2.95)	0.19 (0.10, 0.33)
肺泡灌洗液	31	3.01 (2.39, 3.54)	0.14 (0.08, 0.27)
Z 值		-2.091	-0.770
P 值		0.037	0.441

注:VAP为呼吸机相关性肺炎

2.4 VAP患者粪便及肺泡灌洗液中某些肠道菌群相对丰度对比(图2):在VAP患者粪便及肺泡灌洗液测序结果中均存在一些肠道相关菌群,如大肠杆菌属、粪肠杆菌属、拟杆菌属及毛螺菌属等,且丰度均较高。

2.5 VAP患者肺泡灌洗液培养结果及测序结果对比分析(表3):通过对31例VAP患者肺泡灌洗液培养,有20例患者临床培养发现可疑致病菌,且与对应的肺泡灌洗液测序结果一致,其中17例患者粪便测序中也存在这种可疑致病菌。



注:VAP为呼吸机相关性肺炎;两点连线代表此种菌属在每位患者粪便与肺泡灌洗液中的相对丰度对比

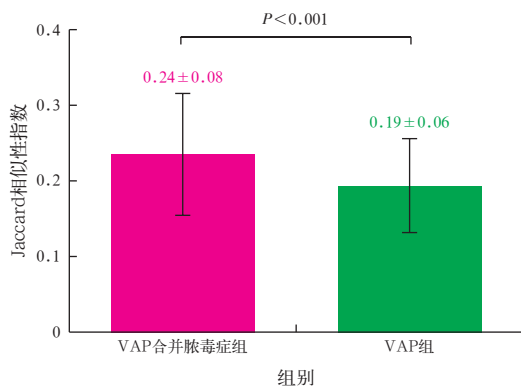
图2 VAP患者粪便及肺泡灌洗液中肠道相关菌群相对丰度对比

表 3 20 例肺泡灌洗液临床培养结果阳性的 VAP 患者对应肺泡灌洗液及粪便测序结果

致病菌	例数 (例)	肺泡灌洗液测序阳性 (例)	粪便测序阳性 (例)
草绿色链球菌	6	6	6
大肠杆菌	5	5	5
肺炎克雷伯菌	3	3	3
鲍曼不动杆菌	3	3	2
金黄色葡萄球菌	2	2	1
铜绿假单胞菌	1	1	0

注：VAP 为呼吸机相关性肺炎

2.6 肺 - 肠菌群相关性比较 (图 3)：根据是否发生脓毒症将 VAP 患者分为两组，其中 VAP 合并脓毒症患者 (VAP 合并脓毒症组) 14 例，遂从 17 例 VAP 未发生脓毒症患者中随机选取 14 例进行样本量匹配，分别计算描述肺 - 肠菌群相关性的 Jaccard 相似性指数，结果显示，VAP 合并脓毒症组 Jaccard 相似性指数较 VAP 组显著升高 ($P < 0.01$)。



注：VAP 为呼吸机相关性肺炎

图 3 是否合并脓毒症两组 VAP 患者 Jaccard 相似性指数比较

3 讨论

在以往的认识中，肺泡被认为是严格无菌的器官。然而研究表明肺泡并非绝对无菌，微生物或它们的产物通过口咽吸入、胃食管反流吸入持续进入肺泡^[4-5]。虽然个体之间存在差异，但非病变肺的肺泡菌群通常由非致病性菌群组成，如普雷沃特菌、链球菌及韦荣球菌，与口咽菌群分布基本一致^[6]。尽管这些细菌在肺泡中的数量相对较少，但它们在维持肺内免疫稳态中发挥着关键作用^[7]。而在危重病患者的肺部，正常的微生物群系迅速被破坏，来自肠道的潜在病原体逐渐被发现^[4,6]。

正常情况下，肠黏膜屏障系统将肠腔内的细菌与机体其他部位分隔开^[8]，肠道内微生态发挥着分解吸收、产生细菌产物^[9]以及协同免疫系统进化等作用^[10]。而病理状态下，如机体在严重应激、感

染、创伤及休克等情况下，肠黏膜屏障因缺血缺氧以及炎症打击出现结构、功能受损^[11]，肠腔内大量复制的致病菌及其产物如内毒素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，肺脏是感染常涉及的器官之一^[4,12-13]。最近有学者证实，新型冠状病毒感染存在导致免疫失衡和免疫反应亢进性肺炎的现象，而且存在肠道内菌群分布失调及肠屏障功能损伤的现象^[14]。有研究者在失血性休克模型中阐述到内脏 - 淋巴 - 肺轴存在的机制：肠系膜淋巴通路的内毒素和胰腺酶避开了门脉循环，绕过了肝脏的网状内皮系统，首先通过肺循环，对肺内皮细胞的直接毒性作用可导致急性肺损伤，最终导致严重的 ARDS^[15]。

同样，考虑到 ICU 中 VAP 患者存在长期禁食、消化道手术及严重的炎症反应等，有肠道微生态紊乱、消化道完整性破坏及肠道屏障功能受损等基础，基于早期 16S rRNA 测序技术较常规培养对 VAP 患者肺部微生态研究方法的优越性^[16]，我们对 VAP 患者肺泡灌洗液进行 16S rRNA 测序研究发现，患者肺部菌群丰度显著高于肠道微生物，由于健康者肺泡灌洗液获取的局限性，我们未进行健康者肺泡灌洗液的测序设置，通过查找文献发现，在健康肺中微生物的生物量很低，每克组织含有 $(1 \sim 100) \times 10^3$ 个细菌，相比之下，大肠为每克组织含有 $(1 \sim 10) \times 10^{11}$ 个细菌，远远大于肺部微生物含量^[17]。由此可知，VAP 患者发生肺部微生物含量大量复制及肠道菌群多样性下降现象，考虑 VAP 患者存在严重且复杂的肺部感染。大量研究表明，健康者的肺部微生物群主要为普雷沃特菌属、链球菌属、韦荣菌属、梭杆菌属和嗜血杆菌属^[17-19]。本研究结果显示，VAP 患者肺部微生物的主要组成成分有某些肠源性细菌的存在，主要为大肠杆菌属和拟杆菌属，约占肺部菌群的 15%。且这 31 例 VAP 患者中大部分患者肺泡灌洗液中大肠杆菌属、粪肠杆菌属、拟杆菌属及毛螺菌属这些肠道相关细菌均呈阳性，且丰度较高，更加说明肠源性细菌肺富集的现象。同样，在一项考察肠道微生物群是否作为血液病原体感染的潜在储存库的研究中发现，大肠杆菌和肺炎克雷伯菌血流感染的造血细胞移植受者中存在着这些微生物的肠道定植，表明肠道可能是这些患者血流感染的来源；而且在肠道微生物群中发现了典型的非肠道病原体，如铜绿假单胞菌和表皮葡

萄球菌,从而打破了这些病原体源自环境或皮肤感染的教条^[20]。

本研究中通过分析31例VAP患者肺泡灌洗液培养结果,有20例患者临床培养发现可疑致病菌,较常见的致病菌有草绿色链球菌、大肠杆菌、鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌,这些致病菌都可以在其肺泡灌洗液测序结果中找到,且其中有17例患者粪便测序中也存在相应的可疑致病菌,这些都提示肠道菌群可能是造成某些VAP患者肺部感染的来源之一。但其余3例患者肺泡灌洗液培养及测序结果中存在的铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌等,在粪便测序结果中并未发现,且在其他VAP患者粪便测序中丰度较低,这说明我们传统上认为VAP患者肺部感染来源于皮肤或环境的某些细菌是合理的。此外,本研究显示,VAP合并脓毒症组描述肺-肠菌群相似度的Jaccard相似性指数较VAP组显著升高,这可能对于临床VAP患者继发脓毒症有一定指导意义。

综上所述,VAP患者可能存在一定的肺-肠菌群相关性,在排除误吸及反流引起的肠道细菌肺富集可能,我们考虑VAP患者肺部感染来源除了来自上呼吸道的吸入及空气微吸入之外,仍有一部分可能来自于下消化道。但由于病例个体差异较大,受到不同干预措施如抗菌药物个体化治疗等不可反映实际情况。所以,实验性大鼠的较均一化个体及理想的干预是进一步验证临床结果可靠性的必要措施,以及对于菌群移位机制的研究如放射性标记及肠屏障损伤鉴定等一系列实验推进,有利于临床上更好地开展VAP患者抗感染治疗。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Tejerina E, Frutos-Vivar F, Restrepo MI, et al. Incidence, risk factors, and outcome of ventilator-associated pneumonia [J]. *J Crit Care*, 2006, 21 (1): 56-65. DOI: 10.1016/j.jccr.2005.08.005.
- [2] Hellyer TP, Ewan V, Wilson P, et al. The Intensive Care Society recommended bundle of interventions for the prevention of ventilator-associated pneumonia [J]. *J Intensive Care Soc*, 2016, 17 (3): 238-243. DOI: 10.1177/1751143716644461.
- [3] 中华医学会呼吸病学分会感染学组. 中国成人医院获得性肺炎与呼吸机相关性肺炎诊断和治疗指南(2018年版)[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2018, 41 (4): 255-280. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2018.04.006.

Infection Group, Chinese Respiratory Medicine Association.

Guidelines for diagnosis and treatment of acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia in adult hospitals in China (2018 edition) [J]. *Chin J Tuberc Respir Dis*, 2018, 41 (4): 255-280. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2018.04.006.

- [4] Dickson RP, Singer BH, Newstead MW, et al. Enrichment of the lung microbiome with gut bacteria in sepsis and the acute respiratory distress syndrome [J]. *Nat Microbiol*, 2016, 1 (10): 16113. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.113.
- [5] Matthay MA, Zimmerman GA. Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: four decades of inquiry into pathogenesis and rational management [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2005, 33 (4): 319-327. DOI: 10.1165/ajrcmb.F305.
- [6] 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.
- [7] O'Dwyer DN, Dickson RP, Moore BB. The lung microbiome, immunity, and the pathogenesis of chronic lung disease [J]. *J Immunol*, 2016, 196 (12): 4839-4847. DOI: 10.4049/jimmunol.1600279.
- [8] Blutt SE, Estes MK. Gut bacterial bouncers: keeping viral pathogens out of the epithelium [J]. *Cell Host Microbe*, 2019, 26 (5): 569-570. DOI: 10.1016/j.chom.2019.10.018.
- [9] Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism [J]. *Nature*, 2012, 489 (7415): 242-249. DOI: 10.1038/nature11552.
- [10] Kayama H, Okumura R, Takeda K. Interaction between the microbiota, epithelia, and immune cells in the intestine [J]. *Annu Rev Immunol*, 2020, 38: 23-48. DOI: 10.1146/annurev-immunol-070119-115104.
- [11] 刘丹, 刘伟, 王晓红, 等. 脓毒症患者肠屏障功能损伤的临床研究 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2018, 27 (7): 785-789. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2018.07.015.
- [12] 邵瑞飞, 杨艳, 郑志榕, 等. 肠道菌群和“肠-肺”轴在脓毒症中的作用 [J]. *基础医学与临床*, 2020, 40 (8): 1109-1112. DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2020.08.023.
- [13] Shao RF, Yang Y, Zheng ZR, et al. Function of gut microbiota and "gut-lung" axis in sepsis [J]. *Basic Clin Med*, 2020, 40 (8): 1109-1112. DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2020.08.023.
- [14] Akrami K, Sweeney DA. The microbiome of the critically ill patient [J]. *Curr Opin Crit Care*, 2018, 24 (1): 49-54. DOI: 10.1097/MCC.0000000000000469.
- [15] Aktas B, Aslim B. Gut-lung axis and dysbiosis in COVID-19 [J]. *Turk J Biol*, 2020, 44 (3): 265-272. DOI: 10.3906/biy-2005-102.
- [16] Deitch EA. Gut lymph and lymphatics: a source of factors leading to organ injury and dysfunction [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1207 Suppl 1: E103-111. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2010.05713.x.
- [17] 杨晓军, 王晓红, 梁志娟, 等. 16S rDNA 测序在呼吸机相关性肺炎痰液细菌多样性分析中的应用 [J]. *中华危重病急救医学*, 2014, 26 (5): 294-299. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.05.002.
- [18] Yang XJ, Wang XH, Liang ZJ, et al. The use of 16S rDNA sequencing in species diversity analysis for sputum of patients with ventilator-associated pneumonia [J]. *Chin Crit Care Med*, 2014, 26 (5): 294-299. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.05.002.
- [19] Mathieu E, Escribano-Vazquez U, Descamps D, et al. Paradigms of lung microbiota functions in health and disease, particularly, in asthma [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1168. DOI: 10.3389/fphys.2018.01168.
- [20] Dickson RP, Erb-Downward JR, Martinez FJ, et al. The microbiome and the respiratory tract [J]. *Annu Rev Physiol*, 2016, 78: 481-504. DOI: 10.1146/annurev-physiol-021115-105238.
- [21] Huffnagle GB, Dickson RP, Lukacs NW. The respiratory tract microbiome and lung inflammation: a two-way street [J]. *Mucosal Immunol*, 2017, 10 (2): 299-306. DOI: 10.1038/mi.2016.108.
- [22] 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: 2020-10-10)

关于经过广告审批后的广告中存在不规范医学名词术语未予更改的声明

依照广告审批的相关规定,按照广告厂家的要求,本刊刊登的新活素、血必净及佳维体广告图片和内容均按照广告审查批准文件的原件刊出,故广告内容中“适应症”“禁忌症”未按标准医学名词术语修改为“适应证”“禁忌证”,“其它”未修改为“其他”,“成份”未修改为“成分”,时间单位仍用汉字表示,剂量单位“ml”未修改为“mL”,标示数值范围的标点符号“-”未修改为“~”。特此声明!