

胆囊切除术后腹泻患者肠道菌群特征分析

曹伟韬*, 丁 振#

安徽医科大学第四附属医院肝胆外科, 安徽 巢湖

收稿日期: 2026年3月3日; 录用日期: 2026年3月26日; 发布日期: 2026年4月7日

摘 要

目的: 探讨胆囊切除术后腹泻(PCD)患者肠道菌群的特征, 为PCD临床防治提供依据。方法: 纳入2025年7月至12月行腹腔镜胆囊切除术患者60例, 分为PCD组(30例)和非PCD组(30例), 另设健康对照组(30例)。采用选择性培养基培养法对粪便样本中大肠杆菌、双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌进行绝对定量分析, 比较三组间的菌群差异。结果: PCD组大肠杆菌 \log_{10} CFU/g (7.53 ± 0.39)和拟杆菌(10.52 ± 0.55)显著高于健康对照组(7.11 ± 0.35 、 9.93 ± 0.41)和非PCD组(7.27 ± 0.42 、 10.20 ± 0.37) ($P < 0.05$); PCD组乳酸杆菌(7.00 ± 0.46)和双歧杆菌(8.59 ± 0.51)显著低于健康对照组(7.43 ± 0.45 、 9.33 ± 0.33)和非PCD组(7.27 ± 0.45 、 8.98 ± 0.35) ($P < 0.05$)。结论: PCD患者肠道菌群呈特征性失调, 表现为条件致病菌(大肠杆菌)和胆汁酸代谢菌(拟杆菌)增多, 有益菌(双歧杆菌、乳酸杆菌)减少, 为微生态干预提供了理论依据。

关键词

胆囊切除术后腹泻, 肠道菌群, 绝对定量, 益生菌

Characteristics of Gut Microbiota in Patients with Post-Cholecystectomy Diarrhea

Weitao Cao*, Zhen Ding#

Department of Hepatobiliary Surgery, The Fourth Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Chaohu Anhui

Received: March 3, 2026; accepted: March 26, 2026; published: April 7, 2026

Abstract

Objective: To investigate the characteristics of gut microbiota in patients with post-cholecystectomy

*第一作者。

#通讯作者。

diarrhea (PCD) and provide evidence for clinical prevention and treatment of PCD. **Methods:** A total of 60 patients undergoing laparoscopic cholecystectomy from July to December 2025 were enrolled and divided into PCD group (n = 30) and non-PCD group (n = 30), with another 30 healthy volunteers as healthy control group. Fecal samples were collected, and absolute quantification of *Escherichia coli*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, and *Bacteroides* was performed using selective culture media. The differences in microbiota among the three groups were compared. **Results:** The abundances of *E. coli* ($7.53 \pm 0.39 \log_{10}\text{CFU/g}$) and *Bacteroides* (10.52 ± 0.55) in PCD group were significantly higher than those in healthy control group (7.11 ± 0.35 , 9.93 ± 0.41) and non-PCD group (7.27 ± 0.42 , 10.20 ± 0.37) ($P < 0.05$). The abundances of *Lactobacillus* (7.00 ± 0.46) and *Bifidobacterium* (8.59 ± 0.51) in PCD group were significantly lower than those in healthy control group (7.43 ± 0.45 , 9.33 ± 0.33) and non-PCD group (7.27 ± 0.45 , 8.98 ± 0.35) ($P < 0.05$). **Conclusion:** Patients with PCD exhibit characteristic gut microbiota dysbiosis, manifested as increased opportunistic pathogens (*E. coli*) and bile acid-metabolizing bacteria (*Bacteroides*), and decreased beneficial bacteria (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*). This provides a theoretical basis for microecological intervention.

Keywords

Post-Cholecystectomy Diarrhea, Gut Microbiota, Absolute Quantification, Probiotics

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

腹腔镜胆囊切除术(Laparoscopic Cholecystectomy, LC)是目前治疗胆囊结石、息肉等胆囊良性疾病的金标准, 胆囊切除术后腹泻(Postcholecystectomy Diarrhea, PCD)是 LC 最主要的并发症之一, 其发生率在不同研究中差异较大, 多为 2.1%~57.2% [1]。PCD 对患者生活质量的负面影响是多维度的, 频繁的腹泻会直接影响日常生活体验, 严重的甚至发展为社交恐惧症。由于胆囊切除后胆汁持续、稀薄地流入肠道, 患者容易出现脂肪泻, 导致脂溶性维生素(A、D、E、K)吸收障碍, 继而可能引发夜盲症、骨质疏松倾向和凝血功能异常等疾病[2] [3]。目前的一线治疗方法, 如胆汁酸螯合剂存在明显的副作用和依从性问[4]。本研究从肠道生态角度切入, 寻找 PCD 患者肠道致病菌株与保护性菌株的失衡特征, 为临床开发更加温和、靶向的干预手段(如精准补充特定益生菌)提供重要的病理生理学依据。

PCD 的传统发病机制主要集中于胆汁酸代谢异常, 由于胆囊储存功能的丧失导致胆汁酸肠肝循环加快、空腹胆汁酸浓度升高以及结肠内胆汁酸总负荷增加。未被结肠吸收的次级胆汁酸如脱氧胆酸会直接作用于结肠黏膜上皮细胞, 影响结肠上皮细胞中 G 蛋白偶联胆汁酸受体 1 (TGR5/GPBAR1)、法尼醇 X 受体(FXR)等受体, 通过增加细胞内 cAMP(环磷酸腺苷)、黏膜通透性、氯离子和水的分泌, 以及刺激杯状细胞分泌黏液等机制, 导致患者出现分泌性腹泻[5]。同时这些次级胆汁酸也可通过 TGR5 等信号通路刺激结肠肠嗜铬细胞, 增加 5-羟色胺(5-HT)的合成与释放, 进而异常加速结肠运动, 进一步加重腹泻症状[6]。实际上, 胆汁酸是一类具有重要信号功能的激素样分子, TGR5、FXR 的激活, 还广泛参与调节全身性的葡萄糖稳态、能量消耗和免疫炎症反应[7]。

传统的“胆汁酸中心论”模型仍无法完全解释 PCD 临床表现的异质性。例如, 并非所有 LC 术后患者都会发生腹泻, PCD 患者症状的严重程度与粪便胆汁酸水平的相关性也许并不总是恒定关系, 临床上应用粪便胆汁酸检测颇为耗时且并不方便[8]。这提示可能存在其他调节因素, 决定了个体对胆汁酸刺激

的敏感性或肠道最终的分泌反应。而肠道菌群作为位于胆汁酸与肠黏膜之间的“活性过滤器”，其结构与功能状态很可能正是这一关键调节因素，它可能通过改变胆汁酸的代谢谱、修饰宿主受体敏感性[9]或直接调节上皮屏障与免疫，最终影响腹泻的发生与否及严重程度。

作为人体的“微生物器官”，肠道菌群通过参与多种途径维持宿主健康。例如，肠道菌群代谢产生的短链脂肪酸(SCFAs)包括醋酸盐、丁酸盐、丙酸盐等成分[10]，丁酸盐能作为结肠细胞局部代谢的首选能量来源，醋酸可在肝脏、肌肉和脂肪组织中调节葡萄糖稳态和脂质代谢，而丙酸则主要在肝脏中作为糖异生的前体，并参与调节食欲[11]，这些肠道菌群构成了“肠-轴”对话的化学基础[12]。PCD患者菌群失调导致的SCFAs产量变化，可能会对结肠上皮能量代谢、屏障完整性和局部免疫环境产生影响[13]。有研究表明，丁酸盐作为组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂，可以开启一系列与屏障维护和抗炎相关的基因表达[14]，在丁酸盐缺乏的环境下，上皮细胞可能更容易对胆汁酸等刺激产生过度的炎症和分泌反应。此外，肠道菌群还可以对宿主先天性免疫系统进行“教育”和塑造。例如，某些细菌分泌的外膜囊泡(OMVs)及益生菌来源的胞外囊泡(PEVs)等物质，能直接作用于巨噬细胞，通过多种途径调控其极化方向[15]。肠道上皮细胞在感知微生物信号后，可通过分泌趋化因子主动募集和协调巨噬细胞，形成“菌群-上皮-巨噬细胞”信号轴[16]。在炎症性肠病如溃疡性结肠炎中，肠道巨噬细胞呈现活化的M1促炎表型[17]，M1巨噬细胞的过度活化会显著降低黏膜的炎症阈值并释放大量炎症介质。此时，菌群失调导致的微生物胆汁酸代谢谱改变[18] (如有益菌源性胆汁酸减少)，使其对相关核受体的调节作用失衡，更容易通过激活模式识别受体等途径，触发强烈的免疫应答，导致组织损伤。

肠道菌群与胆汁酸之间存在着微妙的互作作用，除拟杆菌外，厚壁菌门中的梭菌属等也是重要的7 α -脱羟酶携带者，共同参与次级胆汁酸的生成[19]。具有胆汁盐水解酶(BSH)的肠道菌群如厚壁菌(30%)、拟杆菌门(14.4%)、放线菌门(8.9%)可通过胆汁酸的解毒作用增强细菌在下消化道内的定植，以提高肠道内菌株的竞争力[20][21]。胆汁酸能诱导抗菌肽表达，其具有一定的抗菌活性，能抑制某些敏感菌的生长，而相对耐受菌则得以增殖[22]。而在LC术后，胆囊储存功能的丧失如同移除了该系统的一个重要缓冲器，同时改变了肠道内的化学环境和菌群的生态结构[23]，二者相互影响，共同推动了PCD的发生与发展。最新研究揭示[24]，某些肠道菌群甚至能够合成全新的微生物酰胺化胆汁酸(MABAs)，MABAs能以与经典胆汁酸相似的方式进行肠肝循环，并与宿主胆汁酸竞争转运体，从而深刻影响整个胆汁酸池的组成和信号功能，这意味着PCD的病理生理网络可能比预想的更为复杂，涉及多个微生物代谢模块的功能紊乱。

近年来，宏基因组学的研究进一步将肠道菌群分为不同的“肠型”(Enterotypes)，不同肠型可能与宿主的长短期饮食结构、能量获取效率乃至疾病易感性相关[25]。本研究关注的拟杆菌属，正是以拟杆菌属(*Bacteroides*)为主导的肠型1的核心菌属，其在PCD中的变化可能有着超越单一菌种的意义。而兼性厌氧菌(如大肠杆菌)的过度增殖，往往是生态失调的标志，其后果不仅是争夺其他菌群的营养和空间，还可能通过产生有害代谢物或激活免疫反应，破坏肠道稳定[26]。

目前已知许多因素可以对肠道菌群的结构和功能产生影响，如患者生活环境、地域、LC手术本身、麻醉、饮食习惯的改变以及术后抗生素的使用等多种因素均可扰乱肠道菌群平衡。手术创伤和应激反应可引起患者体内儿茶酚胺和糖皮质激素水平升高，可能引起肠道血管收缩及损伤胃结肠黏膜上皮，腹部手术可引起肠道运动功能障碍[27]。据研究报道，术后疼痛使用的阿片类镇痛药会显著抑制肠道蠕动、引起肠道屏障功能缺陷、免疫反应失调以及胆汁流量改变等，都被认为与阿片类药物诱导的菌群失调有关[28]。因此，LC术后肠道菌群的变化是手术直接效应(胆汁动力学改变)、围手术期干预(药物、应激)和患者基础状态共同作用的“终点”。

目前关于PCD患者肠道菌群的研究一致地报告了肠道菌群多样性的降低，以及 β 多样性(组间群落

结构差异)的显著改变[23]。多项研究观察到 PCD 患者肠道中拟杆菌门的相对丰度升高, 而厚壁菌门比例下降, 即 F/B 比值降低[29], 这与本研究的发现方向一致。但宏基因组学等高通量技术揭示的菌群相对丰度此消彼长, 可能掩盖了关键菌群在绝对数量上的真实变化, 甚至产生误导。例如, 某种有益菌的相对丰度下降, 可能是因其绝对数量减少, 也可能是因为其他菌群过度增殖造成的“稀释效应”, 这种区分对于理解功能影响和设计补充疗法具有根本性差异[30]。传统的微生物培养法能够提供活的、可操作的菌株进行后续功能研究[31], 还能建立菌种库(Biobank), 为后续的益生菌筛选、噬菌体疗法、病原菌-益生菌互作研究提供宝贵的生物资源[32]。回归经典的、提供绝对定量数据的培养方法, 在当前微生物组研究从描述关联迈向机制解析和临床转化的阶段, 具有不可替代的校准和深化价值。

2. 资料与方法

2.1. 研究对象与分组

采用病历-对照研究设计, 选取 2025 年 7 月至 2025 年 12 月于我院肝胆外科行 LC 手术治疗的胆囊结石患者, 根据术后是否发生 PCD 分为 PCD 组(30 例)和非 PCD 组(30 例), 另招募性别、年龄匹配的健康志愿者 30 名作为健康对照组。我们对胆囊结石的诊断均采用了统一的影像学标准(腹部超声检查), 以符合胆囊切除的手术指征[33]。PCD 诊断参照文献[34][35]: 术后新出现每日排便 ≥ 3 次、Bristol 粪便分型为 6 型或 7 型, 且症状持续 ≥ 4 周。PCD 纳入标准: (1) 年龄 18~80 岁; (2) 术前无慢性腹泻、炎症性肠病、肠易激综合征、结肠直肠癌等病史; (3) 术后新出现每日排便 ≥ 3 次、Bristol 粪便分型为 6 型或 7 型, 且症状持续 ≥ 4 周; (4) 术前 1 个月及术后未使用抗生素、益生菌、益生元及免疫抑制剂; (5) 签署知情同意书。排除标准: (1) 术中转开腹; (2) 术后出现胆漏、出血、感染等严重并发症; (3) 药物性、感染性及全身性疾病引起的腹泻。(4) 合并肝、肾、内分泌系统严重原发病; (5) 失访或临床资料不全。为尽快收集到样本数据, 我们通过出院前宣教、术后 1 月复诊、电话随访等方式联系患者, 并给予相应补偿以取得患者尽可能的配合。健康对照组的招募通过我院健康管理中心、患者家属、社会招募等方式进行, 招募时仔细询问志愿者健康状况、近期体检情况, 排除胃肠道器质性疾病、功能性疾病及近 3 个月内使用过影响肠道菌群药物者, 确保其代表本地健康人群的肠道微生态状态。

2.2. 样本采集与处理

患者于术后 1 个月(或腹泻症状持续满 4 周时)入组前, 极为重要的一点是告知患者采样前一周避免食用过于油腻、辛辣刺激性及含有益生菌的食物, 尽量清淡饮食, 以鱼肉蛋奶等优质蛋白食物及五谷杂粮、蔬菜水果等多纤维食物为主, 以减少因患者的不良饮食习惯致粪便培养结果产生较大误差。本研究为每位参与者提供了粪便标本采集杯(珠海科域生物工程), 指导患者如何在家中或病房卫生间使用干净容器承接粪便, 并立即用标本采集杯内置无菌刮勺取中段粪便约 5~10 g 置于采集杯中, 迅速盖紧。样本在采集后 2 小时内送至实验室, 到达后 30 分钟内于超净工作台内完成处理, 以避免厌氧菌死亡[36]。

2.3. 选择性培养基介绍和制备

本研究采用四种选择性培养基分别对大肠杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌、双歧杆菌进行定量培养, 培养基均已通过本院检验科微生物实验室的培养基性能验证。

2.3.1. 培养基介绍

(1) 麦康凯琼脂(MacConkey Agar, MAC): 用于选择性培养大肠杆菌, 菌液涂板后 37°C 恒温培养箱需氧培养 24 小时。麦康凯琼脂平板采用本院微生物实验室采购的成品培养基(合肥天达诊断试剂有限公司)。培养后选择计数所有典型粉红色、中等大小、湿润的乳糖发酵菌落[37]。

(2) BL 琼脂(BL Agar): 用于选择性培养双歧杆菌, 菌液均匀涂抹平板后置于厌氧袋中, 37℃严格厌氧培养 72 小时。培养后计数白色或淡黄色菌落, 选择菌落形态典型且分散良好的平板进行计数[38]。

(3) MRS 琼脂(de Man, Rogosa and Sharpe Agar): 一种富含营养的培养基, 适用于乳酸杆菌的选择性培养。菌液涂布接种后, 通常置于 37℃恒温培养箱中, 在微需氧条件(如 5% CO₂ 环境)下培养 48 小时。典型的乳酸杆菌菌落常呈乳白色、较小、圆形、表面光滑或粗糙。由于某些乳酸杆菌与片球菌在菌落形态上可能相似, 建议通过革兰染色镜检辅助确认, 优先计数革兰阳性杆状的典型菌落[39]。

(4) BBE 琼脂培养基即胆盐七叶苷琼脂(*Bacteroides* Bile Esculin Agar)培养基: 一种用于拟杆菌选择性分离和初步鉴定的培养基, 菌液接种后的平板置于厌氧产气袋(BioMérieux 公司)中, 于 37℃严格厌氧培养 48 小时后, 计数所有形成典型黑褐色菌落或周围培养基显黑褐色(七叶苷水解阳性)的菌落[40]。

2.3.2. 培养基制备

MAC 琼脂采用合肥天达诊断试剂公司生产的成品平板, MRS、BBE、BL 琼脂平板则由研究者自配。配制方法如下: 在 200 mL 三角烧瓶(四川蜀玻科学仪器)中分别加入适量 MRS、BBE、BL 琼脂培养基干粉(青岛海博生物技术), 加入灭菌注射用水溶解混匀, 将烧瓶置于高压蒸汽灭菌锅中 121℃高压灭菌 15 分钟, 取出后冷却至 50℃左右在超净台中倒入无菌细菌培养皿(北京兰杰柯科技)中继续冷却, 待培养基彻底凝固后放入冰箱冷藏备用。

2.4. 梯度稀释与接种

取出样本采集杯中所有粪便置于无菌细菌培养皿中, 用无菌塑料勺充分碾压混匀粪便, 以减少因粪便取样位置因素对培养结果产生干扰。取 0.1 g 粪便样本放入塑料离心管中, 加入 0.9 mL 左右生理盐水, 于涡旋振荡器上充分振荡 10 分钟, 制成 1 mL 10⁻¹ 稀释液[41]。采用 10 倍系列稀释法, 用无菌吸头吸取 0.1 mL 10⁻¹ 菌液放入离心管, 加入 0.9 mL 生理盐水制成 10⁻² 稀释菌液。重复上述操作, 依次将 10⁻² 稀释液稀释至 10⁻⁸。稀释过程均使用无菌的生理盐水(0.85% NaCl)作为稀释液, 每一步稀释均使用新的一次性无菌吸头, 并在涡旋振荡器上高速混匀 15 秒, 确保菌体在稀释液中分布均匀[42]。每种细菌培养基均取三个合适稀释度的菌液各 100 μL, 用无菌接种环分别均匀涂抹接种于上述四种选择性培养基上, 并迅速送入培养箱培养。

2.5. 粪便样本的低温保存

为保障本研究结果的可重复性, 为后续培养失败需重复培养保留生物样本, 本研究对每份粪便样本的原始稀释液(10⁻¹ 稀释度)进行了规范的低温冷冻保存操作, 具体操作如下。

2.5.1. 冻存液制备与分装

采用终浓度为 10% 的甘油作为冷冻保护剂[43]。取充分混匀后的 10⁻¹ 粪便稀释液 500 μL, 加入 500 μL 无菌的 20% 甘油溶液(用 0.85% 生理盐水配制), 轻柔混匀, 使甘油终浓度达到 10%。在超净工作台内, 将此混合液装入 1 支预冷、标记清晰的无菌低温冻存管中, 每管装入 500 μL。

2.5.2. 降温与保存程序

分装后, 冻存管立即置于程序降温盒(Nalgene® Mr. Frosty™)中, 并放入-80℃深低温冰箱。程序降温盒能提供约-1℃/min 的标准化降温速率(Bushley Lab, 2021) [44], 经过 24 小时的程序降温后, 将冻存管转移至深低温冰箱保存。根据菌种保藏原则[45], -80℃环境可有效抑制微生物代谢, 实现样本长达数月甚至数年的稳定保存。所有冻存样本均按“患者编号-采样日期”的格式进行详细标记, 以确保样本信息的准确无误。

2.5.3. 复苏验证

将冻存管从深低温冰箱取出, 迅速置于 37℃ 恒温水浴槽中, 轻柔晃动至其内部冰晶完全融化(约 1~2 分钟)。在超净台中用无菌吸头吸取 100 μL 复苏液, 按 2.4 所述方法进行梯度稀释与接种培养。经对比, 复苏后样本的菌落计数结果与初次培养结果无显著差异, 表明本冻存方案能有效保持肠道菌群的数量与活力。

2.6. 菌落计数与鉴定

四种细菌培养基培养后取菌落数在 30~300 之间的平板进行计数[46], 计数工作使用菌落计数器以减少人为误差, 对于菌落蔓延或重叠严重的平板不予计数, 采用相邻稀释度的平板数据, 最终分别记录四种培养基的稀释度、有效菌落数。若某平板中非典型菌落的比例超过 20%, 则应判定无效并予以弃用。菌群计数结果按以下公式计算, 并以 $\log_{10}\text{CFU/g}$ 粪便表示: $\text{CFU/g} = (\text{平均菌落数} \times \text{稀释倍数}) / \text{接种体积} (0.1 \text{ mL})$ 。

2.7. 统计学方法

采用 SPSSAU 对实验数据进行处理与分析。所有定量资料经对数转换($\log_{10}\text{CFU/g}$)后, 以均数士标准差的形式进行描述。正态性检验首选 Shapiro-Wilk 检验。由于部分指标数据不满足正态分布, 采用 Levene 检验分析各组数据的方差齐性。若数据满足方差齐性, 则采用单因素方差分析(ANOVA); 若数据不满足方差齐性, 则采用 Welch 方差分析。对于满足方差齐性的数据, 采用 LSD (最小显著差法)进行事后检验; 对于方差不齐的数据, 则采用 Games-Howell 检验。本研究计算了偏 η^2 (Partial Eta-squared)作为效应量指标, 偏 η^2 值在 0.01、0.06、0.14 附近分别对应小、中、大的效应量。所有假设检验均采用双侧检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3. 结果

3.1. 数据基本特征与前提检验

对 90 例样本的 4 种细菌肠道菌群指标($\log_{10}\text{CFU/g}$)进行正态性与方差齐性检验。检验结果详见表 1。

Table 1. Normality and homogeneity of variance tests for the four types of gut microbiota data
表 1. 4 种肠道菌群数据的正态性与方差齐性检验

指标	统计量 w 值	Shapiro-Wilk P 值	Levene P 值	统计方法选择
大肠杆菌_ $\log_{10}\text{CFU/g}$	0.928	<0.001	0.254	单因素方差
乳酸杆菌_ $\log_{10}\text{CFU/g}$	0.982	0.268	0.787	单因素方差
拟杆菌_ $\log_{10}\text{CFU/g}$	0.941	<0.001	0.067	单因素方差
双歧杆菌_ $\log_{10}\text{CFU/g}$	0.954	0.003	0.023	Welch 方差

如表 1 所示, 仅乳酸杆菌数据的 Shapiro-Wilk 检验整体 P 值大于 0.05 ($P = 0.268$), 而大肠杆菌、拟杆菌及双歧杆菌的检验整体 P 值均小于 0.05。Levene 检验结果显示, 大肠杆菌、乳酸杆菌及拟杆菌的 P 值均大于 0.05 (分别为 0.254、0.787、0.067), 表明这三项指标在三组间的方差具有齐性。双歧杆菌的 Levene 检验 P 值为 0.023 ($P < 0.05$), 表明其不同组间的方差不齐。大肠杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌虽不完全满足正态性, 但在方差齐性的前提下, 考虑到样本量均衡($n = 30$)且 ANOVA 对正态性具有一定的稳健性, 可采用单因素方差分析。对于双歧杆菌, 因其同时不满足正态性且方差不齐, 故采用 Welch 方差分析。

3.2. 不同分组间肠道菌群指标的比较

采用相应的参数检验方法比较三种分组条件下四种肠道菌群指标的差异, 各组描述性统计量及假设检验结果汇总于表 2。

Table 2. Comparison of the levels of four types of gut microbiota across different clinical groups ($M \pm SD$)

表 2.4 种肠道菌群在不同临床分组中数据水平比较(均数 \pm 标准差)

指标	PCD 组($n = 30$)	非 PCD 组($n = 30$)	健康对照组($n = 30$)	F 值	P 值	偏 η^2
大肠杆菌_log ₁₀ CFU/g	7.53 \pm 0.39	7.27 \pm 0.42	7.11 \pm 0.35	8.932	<0.001	0.17
乳酸杆菌_log ₁₀ CFU/g	7.00 \pm 0.46	7.27 \pm 0.45	7.43 \pm 0.45	7.076	0.001	0.14
拟杆菌_log ₁₀ CFU/g	10.52 \pm 0.55	10.20 \pm 0.37	9.93 \pm 0.41	13.018	<0.001	0.23
双歧杆菌_log ₁₀ CFU/g	8.59 \pm 0.51	8.98 \pm 0.35	9.33 \pm 0.33	23.430	<0.001	0.45

由表 2 可知, 四种肠道菌群在不同临床分组中的表达水平均存在显著的统计学差异(P 值均<0.05), 且偏 $\eta^2 \geq 0.14$, 均为大效应。

3.3. 事后多重比较分析

根据方差齐性检验结果, 大肠杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌采用 LSD 法, 双歧杆菌采用 Games-Howell 法。详细比较结果见表 3。

Table 3. Pairwise comparison of the expression levels of four types of gut microbiota (post-hoc test)

表 3.4 种肠道菌群表达水平的两两比较结果(事后检验)

指标	比较组别	差值	标准误	P 值	统计学结论
大肠杆菌_log ₁₀ CFU/g	PCD vs 健康对照	0.420	0.101	<0.001	PCD > 健康对照
	PCD vs 非 PCD	0.266	0.101	0.010	PCD > 非 PCD
	健康对照 vs 非 PCD	-0.154	0.101	0.129	差异无统计学意义
乳酸杆菌_log ₁₀ CFU/g	PCD vs 健康对照	-0.435	0.117	<0.001	健康对照 > PCD
	PCD vs 非 PCD	-0.276	0.117	0.021	非 PCD > PCD
	健康对照 vs 非 PCD	0.159	0.117	0.177	差异无统计学意义
拟杆菌_log ₁₀ CFU/g	PCD vs 健康对照	0.597	0.117	<0.001	PCD > 健康对照
	PCD vs 非 PCD	0.325	0.117	0.007	PCD > 非 PCD
	健康对照 vs 非 PCD	-0.272	0.117	0.023	非 PCD > 健康对照
双歧杆菌_log ₁₀ CFU/g	PCD vs 健康对照	-0.739	0.111	<0.001	健康对照 > PCD
	PCD vs 非 PCD	-0.384	0.112	0.004	非 PCD > PCD
	健康对照 vs 非 PCD	0.355	0.087	<0.001	健康对照 > 非 PCD

根据表 3 的两两比较结果可以看出: PCD 组患者肠道中的大肠杆菌定量显著高于健康对照组和非 PCD 组患者($P < 0.01$)。健康对照组乳酸杆菌定量显著高于 PCD 组($P < 0.01$), 非 PCD 组的乳酸杆菌也显著高于 PCD 组($P < 0.05$)。PCD 组患者肠道中的拟杆菌定量显著高于健康对照组和非 PCD 组($P < 0.01$), 非 PCD 组患者的拟杆菌也显著高于健康对照组($P < 0.05$)。健康对照组人群肠道中的双歧杆菌定量显著高

于 PCD 组和非 PCD 组患者($P < 0.01$), 非 PCD 组患者的也显著高于 PCD 组($P < 0.01$)。

4. 讨论

四种肠道菌群在不同临床分组中的定量存在显著差异。PCD 组患者肠道中大肠杆菌与拟杆菌的定量显著高于健康对照组与非 PCD 组; 而乳酸杆菌与双歧杆菌则呈现相反趋势。此外, 拟杆菌与双歧杆菌在健康对照组与非 PCD 组之间的差异也具显著性。结果清晰地表明, PCD 的发生与特定的肠道菌群紊乱密切相关, 其特征是: 条件致病菌(大肠杆菌)增殖、胆汁酸代谢菌(拟杆菌)增多及有益菌(双歧杆菌、乳酸杆菌)减少。需要说明的是, 尽管下文将结合现有文献对这些菌群变化可能涉及的胆汁酸代谢和短链脂肪酸机制进行探讨, 但本研究并未直接检测粪便中的胆汁酸谱(如初级/次级胆汁酸浓度及比例)或短链脂肪酸(丁酸、丙酸、乙酸等)含量。因此, 相关讨论主要基于观察到的菌群变化与文献报道进行合理推断, 尚不能直接验证这些代谢物在 PCD 发病中的具体作用。

PCD 患者双歧杆菌、乳酸杆菌减少的现象可能会显著影响患者肠道的健康。近年来一系列研究逐步揭示, 某些特定的双歧杆菌和乳酸杆菌菌株, 能够借助其表面的关键分子结构(如脂磷壁酸), 该结构可与肠道上皮细胞表面的模式识别受体(主要是 Toll 样受体家族成员, 如 TLR2)发生特异性识别与结合[47]。这种相互作用会启动细胞内的信号传导, 对核因子 κ B (NF- κ B)和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)等关键信号通路产生调控, 从而精密地调节宿主的炎症反应并维持肠道屏障功能[48]。一个被深入阐述的例证来自鼠李糖乳杆菌 GG (LGG): 动物研究表明, 补充 LGG 能够通过诱导肠上皮细胞表达细胞保护性热休克蛋白, 从而有效减轻多种因素引起的肠道屏障损伤[49]。此外, 这些益生菌还通过产生短链脂肪酸(如丁酸盐)、合成分泌胞外多糖(EPS)、强化肠上皮紧密连接、竞争性抑制病原菌定植等[50]-[53]多种机制维持肠道稳态。丁酸盐是肠道上皮细胞的首选能量物质, 还可通过细胞表面 G 蛋白偶联受体(如 GPR41、GPR43 和 GPR109A), 激活控制免疫功能的信号级联反应, 直接抑制组蛋白去乙酰化酶(HDACs), 促进抗菌肽(AMPs)的产生, 增强肠道上皮屏障功能[13]。某些乳酸杆菌产生的特定胞外多糖已被证明能够通过 TLR2 依赖性途径上调肠上皮细胞紧密连接蛋白(如 ZO-1、Occludin)的表达, 直接增强物理屏障功能[54] [55]。因此, 维护此类细菌成分驱动的屏障功能, 被认为是预防或缓解某些类型腹泻(如感染后腹泻或炎症相关腹泻)的重要机制之一[56] [57]。我们的研究结果与 Li 等[58]基于高通量 16S rRNA 基因测序的研究结论相互印证, 他们都报告了 PCD 患者中双歧杆菌相对丰度的降低。

同时, 条件致病菌(大肠杆菌)和胆汁酸代谢菌(拟杆菌)的增殖是 PCD 菌群紊乱的另一特征。拟杆菌作为主要的胆汁酸代谢菌, 其过度增殖可能加速初级胆汁酸向次级胆汁酸(如脱氧胆酸)的转化[19] [59], 该菌属 BSH 活性或定量的升高, 可能促使更多结合型初级胆汁酸被水解为游离型, 为次级胆汁酸(如脱氧胆酸)的生成提供了更充足的前体物质[60], 而过量的次级胆汁酸成为直接刺激结肠分泌水分导致分泌性腹泻的重要因素[5]。但是, 拟杆菌的过度增殖也需辩证看待。虽然其 BSH 活性是次级胆汁酸生成的关键步骤, 但拟杆菌门中的某些物种(如多形拟杆菌)也是重要的多糖发酵菌, 能产生对人体有益的代谢物[61]。需要指出的是, 参与次级胆汁酸生成的核心功能菌群不仅限于拟杆菌属。厚壁菌门中的某些梭菌属(如 *Clostridium scindens*)同样携带高活性的 7α -脱羟酶, 是介导初级胆汁酸向次级胆汁酸转化的关键驱动者。本研究未对这些核心功能菌进行定量分析, 是本研究的局限性之一, 未来应采用更广泛的靶向定量方法(如 qPCR 或宏基因组学)对包括 *C. scindens* 在内的关键菌种进行系统评估。大肠杆菌的增多则是菌群失衡的典型标志, 一方面, 有益菌的耗竭为其腾出了生态位; 另一方面, 某些大肠杆菌菌株的脂多糖(LPS)作为强效的细胞表面 Toll 样受体 4 (TLR4)激动剂, TLR4 在辅助因子(如 MD2 等)协助下, 激活下游 NF- κ B 信号通路, 继而促进白介素(IL- 1β 、IL-4、IL-6、IL-8、COX-2)等炎性细胞因子释放, 这些细胞因子会促进炎症细胞募集和激活, 损伤肠道上皮细胞[62]。大肠杆菌致炎作用与其他肠道损伤因素构成恶性

循环,使肠道维持一个慢性的促炎微环境。该机制被认为是包括腹泻型肠易激综合征(IBS-D)在内的多种功能性肠病的重要特征[63],而PCD可能分享了部分类似的炎症相关途径。

本研究的优势在于:1)严格的分组设计,设置了术后无腹泻对照组,能更好区分手术本身的影响和PCD特异性的改变;2)采用经典培养法,能定量活菌数量,结果直观可靠;3)聚焦的四种菌属功能明确,与PCD病理机制联系紧密,为后续靶向干预提供了明确方向(如补充双歧杆菌、乳酸杆菌)。本研究采用的绝对定量方法为“定量微生物组学”提供了有力案例。相对丰度数据无法区分是目标菌的绝对减少还是被其他菌“稀释”,而CFU/g数据清晰地揭示了PCD患者结肠中特定功能单元的“兵力空虚”程度,这对于计算益生菌的补充剂量至关重要。

研究的局限性与未来展望:尽管本研究设计严谨并获得了有意义的发现,我们仍清醒地认识到其存在的局限性。首先,本研究仅在一家医院开展,属于单中心的观察性研究,外推性受限。本研究仅收集术后一个月样本进行检测,为横断面设计,无法排除PCD组患者术前即存在菌群差异,可能导致结果出现偏倚。我们发现了PCD与特定菌群特征的关联,但无法确立绝对的因果关系。其次,本研究聚焦于四种功能明确的菌属,无疑也牺牲了对肠道微生态系统整体性、复杂性的把握。第三,本研究缺乏对关键功能性指标的直接测量。我们虽推断胆汁酸代谢和短链脂肪酸合成可能发生改变,但并未直接检测粪便中的胆汁酸谱(如脱氧胆酸、石胆酸等次级胆汁酸浓度及比例)及短链脂肪酸(丁酸、丙酸、醋酸盐)的含量,导致机制探讨主要基于菌群变化与文献关联,缺乏直接代谢证据的支持。第四,本研究仅在术后一个月这一单一时间点进行采样。但PCD是一个动态发展的病理过程,需通过设计严谨的纵向研究来解答。

未来可能的研究路径:第一,机制探索研究:利用无菌动物模型,分别定植PCD患者与健康对照者的粪菌,观察受体动物是否出现腹泻样表型及胆汁酸代谢谱改变,以直接验证PCD相关菌群的致病性。第二,多组学整合研究:在扩大样本量的基础上,整合宏基因组学(解析菌群基因功能,包括7 α -脱羟酶、胆汁盐水解酶等功能基因丰度)及代谢组学(直接检测粪便胆汁酸谱、短链脂肪酸等),系统构建PCD的“微生物组-功能基因-代谢物-临床表型”调控网络,以直接验证菌群变化与代谢物改变之间的因果关系。第三,动态队列研究:开展多中心前瞻性队列研究,于术前、术后1周、1月、3月、6月及1年等多个时间点动态采集样本与临床数据,旨在绘制PCD发生发展的全病程图谱并建立预测模型。

5. 结论

本研究结果表明,PCD的发生与特定的肠道菌群紊乱密切相关,其特征表现为以双歧杆菌、乳酸杆菌为代表的有益菌减少,和以大肠杆菌、拟杆菌为代表的条件致病菌增多。这一发现为从微生态角度防治PCD提供了直接的理论依据。本研究将PCD的发病机制理解从传统的“胆汁酸中心论”,拓展至强调“菌群-胆汁酸协同作用”的新阶段。因此,针对肠道微生态进行早期监测和干预,有望成为降低PCD发病率、改善患者生活质量的新策略。

声明

本研究方案经我院伦理委员会审核批准。

参考文献

- [1] Farrugia, A., Attard, J.A., Hanmer, S., Bullock, S., McKay, S., Al-Azzawi, M., *et al.* (2021) Rates of Bile Acid Diarrhoea after Cholecystectomy: A Multicentre Audit. *World Journal of Surgery*, **45**, 2447-2453. <https://doi.org/10.1007/s00268-021-06147-8>
- [2] Ahmed, M. (2022) Functional, Diagnostic and Therapeutic Aspects of Bile. *Clinical and Experimental Gastroenterology*, **15**, 105-120. <https://doi.org/10.2147/ceg.s360563>
- [3] Andrès, E., Lorenzo-Villalba, N., Terrade, J. and Méndez-Bailon, M. (2024) Fat-Soluble Vitamins A, D, E, and K:

- Review of the Literature and Points of Interest for the Clinician. *Journal of Clinical Medicine*, **13**, Article 3641. <https://doi.org/10.3390/jcm13133641>
- [4] Yang, D., Lyu, C., He, K., Pang, K., Guo, Z. and Wu, D. (2024) Bile Acid Diarrhea: From Molecular Mechanisms to Clinical Diagnosis and Treatment in the Era of Precision Medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, **25**, Article 1544. <https://doi.org/10.3390/ijms25031544>
- [5] Camilleri, M. (2015) Bile Acid Diarrhea: Prevalence, Pathogenesis, and Therapy. *Gut and Liver*, **9**, 332-339. <https://doi.org/10.5009/gnl14397>
- [6] Alemi, F., Poole, D.P., Chiu, J., Schoonjans, K., Cattaruzza, F., Grider, J.R., *et al.* (2013) The Receptor TGR5 Mediates the Prokinetic Actions of Intestinal Bile Acids and Is Required for Normal Defecation in Mice. *Gastroenterology*, **144**, 145-154. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.09.055>
- [7] Chiang, J.Y.L. and Ferrell, J.M. (2018) Bile Acid Metabolism in Liver Pathobiology. *Gene Expression*, **18**, 71-87. <https://doi.org/10.3727/105221618x15156018385515>
- [8] Di Ciaula, A., Khalil, M., Baffy, G. and Portincasa, P. (2024) Advances in the Pathophysiology, Diagnosis and Management of Chronic Diarrhoea from Bile Acid Malabsorption: A Systematic Review. *European Journal of Internal Medicine*, **128**, 10-19. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2024.07.008>
- [9] Wahlström, A., Sayin, S.I., Marschall, H. and Bäckhed, F. (2016) Intestinal Crosstalk between Bile Acids and Microbiota and Its Impact on Host Metabolism. *Cell Metabolism*, **24**, 41-50. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.05.005>
- [10] Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P. and Bäckhed, F. (2016) From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell*, **165**, 1332-1345. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.041>
- [11] Canfora, E.E., Jocken, J.W. and Blaak, E.E. (2015) Short-Chain Fatty Acids in Control of Body Weight and Insulin Sensitivity. *Nature Reviews Endocrinology*, **11**, 577-591. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.128>
- [12] Krautkramer, K.A., Fan, J. and Bäckhed, F. (2020) Gut Microbial Metabolites as Multi-Kingdom Intermediates. *Nature Reviews Microbiology*, **19**, 77-94. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0438-4>
- [13] Parada Venegas, D., De la Fuente, M.K., Landskron, G., González, M.J., Quera, R., Dijkstra, G., *et al.* (2019) Corrigendum: Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases. *Frontiers in Immunology*, **10**, Article ID: 277. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01486>
- [14] Fellows, R., Denizot, J., Stellato, C., Cuomo, A., Jain, P., Stoyanova, E., *et al.* (2018) Microbiota Derived Short Chain Fatty Acids Promote Histone Crotonylation in the Colon through Histone Deacetylases. *Nature Communications*, **9**, Article No. 105. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02651-5>
- [15] Li, Y., Liu, Y., Wei, X., Wang, C., Zahoor Khan, M. and Ma, Q. (2026) Probiotic Extracellular Vesicles Reprogram Macrophage Immunometabolism: From Gut Crosstalk to Host Health. *Gut Microbes*, **18**, Article 2614115. <https://doi.org/10.1080/19490976.2026.2614115>
- [16] Tsai, M., Callaghan, R., Ng, C., Peres-Tintin, L., Matthews, D.B., Stanford, N., *et al.* (2026) Intestinal Epithelial TLR5 Signaling Promotes Barrier-Supportive Macrophages. *Science Immunology*, **11**, eadr4057. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.adr4057>
- [17] Dharmasiri, S., Garrido-Martin, E.M., Harris, R.J., Bateman, A.C., Collins, J.E., Cummings, J.R.F., *et al.* (2021) Human Intestinal Macrophages Are Involved in the Pathology of Both Ulcerative Colitis and Crohn Disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, **27**, 1641-1652. <https://doi.org/10.1093/ibd/izab029>
- [18] Lindner, S., Miltiadous, O., Ramos, R.J.F., Paredes, J., Kousa, A.I., Dai, A., *et al.* (2024) Altered Microbial Bile Acid Metabolism Exacerbates T Cell-Driven Inflammation during Graft-Versus-Host Disease. *Nature Microbiology*, **9**, 614-630. <https://doi.org/10.1038/s41564-024-01617-w>
- [19] Ridlon, J.M., Harris, S.C., Bhowmik, S., Kang, D. and Hylemon, P.B. (2016) Consequences of Bile Salt Biotransformations by Intestinal Bacteria. *Gut Microbes*, **7**, 22-39. <https://doi.org/10.1080/19490976.2015.1127483>
- [20] Ridlon, J.M., Kang, D. and Hylemon, P.B. (2006) Bile Salt Biotransformations by Human Intestinal Bacteria. *Journal of Lipid Research*, **47**, 241-259. <https://doi.org/10.1194/jlr.r500013-jlr200>
- [21] Begley, M., Hill, C. and Gahan, C.G.M. (2006) Bile Salt Hydrolase Activity in Probiotics. *Applied and Environmental Microbiology*, **72**, 1729-1738. <https://doi.org/10.1128/aem.72.3.1729-1738.2006>
- [22] Winston, J.A. and Theriot, C.M. (2016) Impact of Microbial Derived Secondary Bile Acids on Colonization Resistance against *Clostridium Difficile* in the Gastrointestinal Tract. *Anaerobe*, **41**, 44-50. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.05.003>
- [23] Xu, Y., Jing, H., Wang, J., Zhang, S., Chang, Q., Li, Z., *et al.* (2022) Disordered Gut Microbiota Correlates with Altered Fecal Bile Acid Metabolism and Post-Cholecystectomy Diarrhea. *Frontiers in Microbiology*, **13**, Article ID: 800604. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.800604>
- [24] Temprano, A.G., Romero, M.R., Ghallab, A., Llera, L., Macias, R.I.R., van Eijk, H.M., *et al.* (2025) Gut-to-Bile Transfer

- of Microbially Amidated Minor Bile Acids in Patients with Hepatopancreatobiliary Disorders. *Hepatology*. <https://doi.org/10.1097/HEP.0000000000001441>
- [25] Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D.R., *et al.* (2011) Enterotypes of the Human Gut Microbiome. *Nature*, **473**, 174-180. <https://doi.org/10.1038/nature09944>
- [26] Litvak, Y., Byndloss, M.X., Tsolis, R.M. and Bäumlér, A.J. (2017) Dysbiotic Proteobacteria Expansion: A Microbial Signature of Epithelial Dysfunction. *Current Opinion in Microbiology*, **39**, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.07.003>
- [27] 陈鑫容, 杨婕, 梁诗琪, 等. 肠道微生态与创伤的研究进展[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2022, 29(6): 810-815.
- [28] Zádori, Z.S., Király, K., Al-Khrasani, M. and Gyires, K. (2023) Interactions between NSAIDs, Opioids and the Gut Microbiota-Future Perspectives in the Management of Inflammation and Pain. *Pharmacology & Therapeutics*, **241**, Article 108327. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2022.108327>
- [29] Ang, T.L., Koo, S.H., Ang, D., Tan, C.K., Wang, L.M., Wong, S.H., *et al.* (2025) Postcholecystectomy Gut Microbiome Changes and the Clinical Impact: A Systematic Review with Narrative Synthesis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **40**, 574-583. <https://doi.org/10.1111/jgh.16846>
- [30] Vandeputte, D., Kathagen, G., D'hoë, K., Vieira-Silva, S., Valles-Colomer, M., Sabino, J., *et al.* (2017) Quantitative Microbiome Profiling Links Gut Community Variation to Microbial Load. *Nature*, **551**, 507-511. <https://doi.org/10.1038/nature24460>
- [31] Xu, M., Pan, F., Peng, L. and Yang, Y. (2024) Advances in the Isolation, Cultivation, and Identification of Gut Microbes. *Military Medical Research*, **11**, Article No. 31. <https://doi.org/10.1186/s40779-024-00534-7>
- [32] Zou, Y., Xue, W., Luo, G., Deng, Z., Qin, P., Guo, R., *et al.* (2019) 1,520 Reference Genomes from Cultivated Human Gut Bacteria Enable Functional Microbiome Analyses. *Nature Biotechnology*, **37**, 179-185. <https://doi.org/10.1038/s41587-018-0008-8>
- [33] European Association for the Study of the Liver (EASL) (2016) EASL Clinical Practice Guidelines on the Prevention, Diagnosis and Treatment of Gallstones. *Journal of Hepatology*, **65**, 146-181.
- [34] 汤朝晖, 耿智敏, 锁涛, 等. 胆囊切除术后常见并发症的诊断与治疗专家共识(2018版)[J]. 全科医学临床与教育, 2018, 16(3): 244-246.
- [35] 李瑞, 游海波. 胆囊切除术后腹泻的研究进展[J]. 检验医学与临床, 2023, 20(22): 3389-3392, 3415.
- [36] 中华预防医学会医院感染控制分会. 临床微生物标本采集和送检指南[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28(20): 3192-3200.
- [37] 国家食品药品监督管理局. YY/T 1169-2009, 麦康凯琼脂培养基[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [38] 张倩文. 双歧杆菌培养基的筛选与评价[D]: [硕士学位论文]. 北京: 北京化工大学, 2022.
- [39] 国家市场监督管理总局, 国家卫生健康委员会. GB 4789.35-2023, 食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2023.
- [40] Livingston, S.J., Kominos, S.D. and Yee, R.B. (1978) New Medium for Selection and Presumptive Identification of the Bacteroides Fragilis Group. *Journal of Clinical Microbiology*, **7**, 448-453. <https://doi.org/10.1128/jcm.7.5.448-453.1978>
- [41] 刘莹, 谭寅凤, 张迎, 等. 基于培养组学的肠道菌群培养及鉴定方法研究[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2021, 22(6): 762-768.
- [42] 张艳, 刘均娥, 张晶, 等. 平板活菌计数法检测粪便中的肠道菌群[J]. 首都医科大学学报, 2008, 29(1): 85-86.
- [43] 陈傲蕾, 胡赢心, 张雅洁, 等. 复合低温保护剂对粪菌液中活细菌的保护效果[J]. 基因组学与应用生物学, 2021, 40(Z4): 3776-3786.
- [44] Bushley Lab (2021) Protocol for Cryopreservation of Fungi at -80°C in Glycerol. https://www.ars.usda.gov/northeast-area/geneva-ny/plant-genetic-resources-unit-pgru/hemp-collection-collaborations/hdm-versioning/fungal_appx3/
- [45] 国家质量监督检验检疫总局. SN/T 2632-2010, 微生物菌种常规保藏技术规程[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [46] 国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. GB 4789.28-2024, 食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求[S]. 北京: 中国标准出版社, 2024.
- [47] Yamasaki-Yashiki, S., Shiraishi, T., Gyobu, M., Sasaki, H., Kunisawa, J., Yokota, S., *et al.* (2024) Immunostimulatory Activity of Lipoteichoic Acid with Three Fatty Acid Residues Derived from *Limosilactobacillus antri* JCM 15950[†]. *Applied and Environmental Microbiology*, **90**, e0119724. <https://doi.org/10.1128/aem.01197-24>
- [48] Paveljšek, D., Ivičak-Kocjan, K., Treven, P., Benčina, M., Jerala, R. and Rogelj, I. (2021) Distinctive Probiotic Features Share Common TLR2 -Dependent Signalling in Intestinal Epithelial Cells. *Cellular Microbiology*, **23**, e13264. <https://doi.org/10.1111/cmi.13264>

- [49] Tao, Y., Drabik, K.A., Waypa, T.S., Musch, M.W., Alverdy, J.C., Schneewind, O., *et al.* (2006) Soluble Factors from *Lactobacillus Gg* Activate Mapks and Induce Cytoprotective Heat Shock Proteins in Intestinal Epithelial Cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, **290**, C1018-C1030. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00131.2005>
- [50] Castro-Bravo, N., Wells, J.M., Margolles, A. and Ruas-Madiedo, P. (2018) Interactions of Surface Exopolysaccharides from Bifidobacterium and Lactobacillus within the Intestinal Environment. *Frontiers in Microbiology*, **9**, Article ID: 2426. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02426>
- [51] Guo, S., Gillingham, T., Guo, Y., Meng, D., Zhu, W., Walker, W.A., *et al.* (2017) Secretions of *Bifidobacterium infantis* and *Lactobacillus acidophilus* Protect Intestinal Epithelial Barrier Function. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, **64**, 404-412. <https://doi.org/10.1097/mpg.0000000000001310>
- [52] Rooks, M.G. and Garrett, W.S. (2016) Gut Microbiota, Metabolites and Host Immunity. *Nature Reviews Immunology*, **16**, 341-352. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.42>
- [53] Monteagudo-Mera, A., Rastall, R.A., Gibson, G.R., Charalampopoulos, D. and Chatzifragkou, A. (2019) Adhesion Mechanisms Mediated by Probiotics and Prebiotics and Their Potential Impact on Human Health. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **103**, 6463-6472. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09978-7>
- [54] Chen, F., Wu, S., Wang, X., Li, Y., He, B., Fu, Y., *et al.* (2025) Lactobacillus Delbrueckii Alleviate Oxidative Stress and Intestinal Injuries by Activating TLR2 and TLR4 Expressions in IPEC-J2 Cells. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, **17**, 5184-5194. <https://doi.org/10.1007/s12602-025-10466-w>
- [55] Wachi, S., Kanmani, P., Tomosada, Y., Kobayashi, H., Yuri, T., Egusa, S., *et al.* (2014) *Lactobacillus delbrueckii* TUA44081 and Its Extracellular Polysaccharides Attenuate Enterotoxigenic *Escherichia coli*-Induced Inflammatory Response in Porcine Intestinal Epitheliocytes via Toll-Like Receptor-2 and 4. *Molecular Nutrition & Food Research*, **58**, 2080-2093. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400218>
- [56] Haque, M., Kaminsky, L., Abdulqadir, R., Engers, J., Kovtunov, E., Rawat, M., *et al.* (2024) Lactobacillus Acidophilus Inhibits the TNF- α -Induced Increase in Intestinal Epithelial Tight Junction Permeability via a TLR-2 and PI3K-Dependent Inhibition of NF- κ B Activation. *Frontiers in Immunology*, **15**, Article ID: 1348010. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1348010>
- [57] Al-Sadi, R., Nighot, P., Nighot, M., Haque, M., Rawat, M. and Ma, T.Y. (2021) Lactobacillus Acidophilus Induces a Strain-Specific and Toll-Like Receptor 2-Dependent Enhancement of Intestinal Epithelial Tight Junction Barrier and Protection against Intestinal Inflammation. *The American Journal of Pathology*, **191**, 872-884. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2021.02.003>
- [58] Li, Y., Liu, B., Zhao, S., Zhou, Y., Bai, L. and Liu, E. (2021) Changes in Gut Microbiota Composition and Diversity Associated with Post-Cholecystectomy Diarrhea. *World Journal of Gastroenterology*, **27**, 391-403. <https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i5.391>
- [59] Smirnova, E., Muthiah, M.D., Narayan, N., Siddiqui, M.S., Puri, P., Luketic, V.A., *et al.* (2022) Metabolic Reprogramming of the Intestinal Microbiome with Functional Bile Acid Changes Underlie the Development of NAFLD. *Hepatology*, **76**, 1811-1824. <https://doi.org/10.1002/hep.32568>
- [60] Funabashi, M., Grove, T.L., Wang, M., Varma, Y., McFadden, M.E., Brown, L.C., *et al.* (2020) A Metabolic Pathway for Bile Acid Dehydroxylation by the Gut Microbiome. *Nature*, **582**, 566-570. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2396-4>
- [61] Wexler, A.G. and Goodman, A.L. (2017) An Insider's Perspective: Bacteroides as a Window into the Microbiome. *Nature Microbiology*, **2**, Article No. 17026. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.26>
- [62] 王梦竹, 贾军峰, 崔一喆, 等. 脂多糖诱导的肠屏障蛋白及其信号通路研究进展[J]. 动物营养学报, 2020, 32(5): 2060-2065.
- [63] Mars, R.A.T., Yang, Y., Ward, T., Houtti, M., Priya, S., Lekatz, H.R., *et al.* (2020) Longitudinal Multi-Omics Reveals Subset-Specific Mechanisms Underlying Irritable Bowel Syndrome. *Cell*, **182**, 1460-1473.e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.007>