

•临床研究 Clinical research•

恶性胆道梗阻患者引流前后胆道微生物群改变初步研究

陈 燕, 方统磊, 田庆华, 吴金亮, 顾梁瑞, 吴春根, 杨 凯

【摘要】 目的 探讨恶性胆道梗阻引流前后胆道微生态改变情况,从微生态角度研究胆道梗阻与引流干预对胆汁微生物群的影响。**方法** 2020 年 1 月至 2022 年 12 月对 32 例恶性胆道梗阻患者行 DSA 引导下经皮穿刺置管引流术(PTCD),22 G 引流针进入胆道并经造影确认位于肝内胆管内后抽取 15~20 mL 胆汁,经导丝植入外或内外引流管,7 d 后经引流管抽取胆汁。两次胆汁样本送检培养及基因测序。收集整理患者一般资料,包括是否发生急性胆管炎及其严重程度,是否使用过抗生素进行治疗等。**结果** 32 例患者中胆管细胞癌 15 例,胰腺癌 10 例,肝细胞癌 3 例,肝门淋巴结转移瘤(胃肠道恶性肿瘤)4 例。引流前胆汁微生物群中伯克霍尔德菌属、不动杆菌属、假单胞菌属和葡萄球菌属相对丰度高,正常胆道内其他微生物多样性和均匀度均降低。**结论** 正常胆道系统内存在稳定的微生物群,恶性梗阻胆道微生物群组成与之相似。引流后胆汁内肠属菌群丰度增加,原胆道微生物群落的物种丰度及多样性减少,可解释胆道引流后患者更容易发生胆道感染的临床现象。

【关键词】 恶性胆道梗阻;经皮胆道引流;微生物菌群

中图分类号:R657.4 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2024)-05-0516-07

Biliary tract microbiota changes before and after drainage in patients with malignant biliary obstruction: a preliminary study CHEN Yan, FANG Tonglei, TIAN Qinghua, WU Jingliang, GU Liangrui, WU Chungen, YANG Kai. Department of Interventional Radiology, Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China

Corresponding author: YANG Kai, E-mail: 98211yangkai@163.com

【Abstract】 Objective To explore the biliary tract microbiota changes before and after drainage treatment in patients with malignant biliary obstruction (MBO), and to study the effects of biliary obstruction and drainage intervention on the bile microbiota from a microecological point of view. **Methods** From January 2020 to December 2022, DSA-guided percutaneous transhepatic catheter drainage(PTCD) was carried out in 32 patients with MBO. A 22G drainage needle was inserted into the bile duct, and about 15-20mL of bile was extracted after it was confirmed that the needle was located within the intrahepatic bile duct, then, an external drainage tube, or an internal drainage tube together with an external drainage tube, was implanted into the bile duct along the guide wire. Seven days after PTCD, bile was extracted through a drainage tube. Bile sampling for germiculture and gene sequencing was conducted twice. The general data of patients, including whether acute cholangitis occurred and its severity, whether antibiotics was used for treatment, etc., were collected. **Results** Of the 32 patients, cholangiocarcinoma was seen in 15, pancreatic cancer in 10, hepatocellular carcinoma in 3, and hilar lymph node metastasis from gastrointestinal malignant tumor in 4. Before PTCD, in the bile microbiota the burkholderia, acinetobacter, pseudomonas and staphylococcus were the bacteria with a high relative abundance, and the diversity and evenness of other microbial species seen in the normal biliary tract were reduced. **Conclusion** There is a stable microbiota within the normal biliary system, and in malignant obstructive biliary tract the microbiota has similar composition. After biliary drainage, the abundance of intestinal flora in bile is increased, and the species richness and diversity of the original biliary

tract microbial community are decreased, which may explain the clinical phenomenon that patients are more prone to biliary tract infection after biliary drainage. (J Intervent Radiol, 2024, 33: 516-522)

【Key words】 malignant biliary obstruction; percutaneous transhepatic catheter drainage; microbial community

胆道系统本身具有多个抑制细菌生长机制,故正常胆道被认为是无菌的^[1-2]。随着越来越多关于人类微生物群研究开展,正常胆道系统内是否也存在微生物群落一直存有争论。1995 年 16S 核糖体 RNA (ribosomal RNA, rRNA) 测序技术出现并广泛应用,证实了“培养不出细菌”的胆汁样本中存在微生物,遂提出“胆道微生物群”概念^[3]。2019 年, Molinero 等^[4]使用 16SrRNA 测序技术首次报道 13 例无肝胆胰疾病肝移植供体胆囊胆汁中存在微生物群。目前针对胆道微生物群的研究很少,如果证实胆道系统存在稳定定植的常驻微生物群落,会彻底改变对胆道感染性疾病发展的认识。本研究以恶性胆道梗阻患者经皮穿刺置管引流术(percutaneous transhepatic catheter drainage, PTCD) 后胆道胆汁微生物群为研究对象、肝移植供体胆汁标本为对照组,探索正常胆道微生物菌群及胆道梗阻和引流后胆道微生态改变,研究胆道梗阻和引流干预对胆汁微生物群的影响,为进一步完善急性胆管炎发病机制和引流干预研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

前瞻性纳入 2020 年 1 月至 2022 年 12 月在上海市第六人民医院接受 PTCD 治疗的 32 例恶性胆道梗阻患者。记录整理患者一般资料(年龄、性别、基础疾病、临床症状、既往史),实验室、影像学检查结果,胆汁培养结果,高通量测序(high-throughput sequencing, HTS)结果,以及是否发生急性胆管炎及其严重程度(依据 2018 年东京诊断及分级标准^[5]),是否使用过抗生素进行治疗等。

恶性胆道梗阻诊断标准^[6-7](同时符合以下 3 个条件): ①临床表现为皮肤巩膜黄染、上腹部不适等。②影像学表现(其中之一),直接征象如肝门部或胆管周围占位性病变、胰腺壶腹部病变;间接征象如肝内外胆管明显扩张,最大直径>15 mm,呈“软藤状”;胆道扩张突然截断,呈“残根状”;胆总管和胰管呈“双管征”。③实验室检验或病理结果提示肿瘤指标(CA19-9、AFP、CEA 等)升高或穿刺活检病理提示恶性肿瘤。

入选标准^[8-11]: ①符合以上诊断标准且年龄≥18 岁。②有 PTCD 适应证(其中之一): 晚期肿瘤引起的恶性梗阻行姑息性胆道引流;恶性胆道梗阻患者术前准备;恶性胆道梗阻伴急性胆道感染行急诊胆道减压引流。③国际标准化比值(INR)≤2.0。④签署手术知情同意书。排除标准^[8-11]: ①不愿或拒绝签署知情同意;②存在胆道引流禁忌证或无法配合完成胆道引流操作;③2 个月内使用过抗生素或其他药物;④预期生存期<3 个月;⑤妊娠及哺乳期妇女;⑥无法收集完整临床资料。设 PTCD 前组(MBO 组)、PTCD 组(BD 组)、对照组(同期本院供体肝脏采集胆汁)。本研究严格遵循相关医学研究伦理要求。

1.2 PTCD 流程与胆汁样本采集

患者取平卧位,右上腹常规消毒铺巾,确定好穿刺点后,以 2%利多卡因局部浸润麻醉至肝被膜,22 G 穿刺针穿刺进入胆管,拔出针芯见胆汁溢出或用空针抽出胆汁后,注入少量稀释的对比剂证实并行胆道造影,明确肝内胆管扩张程度、梗阻部位范围及狭窄情况;导入 0.018 英寸导丝深入胆管内,退出穿刺针后导入血管鞘,退出导丝后无菌采集胆汁样本 15~20 mL;导入 0.035 英寸导丝通过狭窄段进入十二指肠,最后导入外引流管或内外引流管[内外引流管远端放置在梗阻性病变(一般为十二指肠)外,近段引流侧孔放置在梗阻性病变前面];皮肤表面固定引流管、外接三通及引流袋。PTCD 置管前、置管 7 d 后或使用抗生素前,引流管收集胆汁 2 次。每次使用无菌器皿留取胆汁样本分成 2 份,1 份即刻送胆汁培养检验,1 份转移至-80℃冰箱保存,进行 HTS 检测。

1.3 胆汁培养

胆汁标本采集完成后,尽快接种至普通巧克力琼脂平板和血琼脂平板;将血琼脂平板置于 35~37℃普通孵箱中培养,普通巧克力琼脂平板置于 5%~10%二氧化碳孵箱中培养。对于厌氧菌,则根据规范的厌氧菌培养要求,每 24 h 观察 1~2 次,培养 3 d 观察结果。对于培养结果阴性而又高度怀疑感染的标本,可延长观察天数,但最长不超过 5 d。

1.4 DNA 提取、质量控制及测序

使用微远基因公司(上海) NextSeq 550Dx 测序平台、Qiagen 公司 QIAamp® UCP 病原体 DNA 试剂盒,从 5~10 mL 胆汁样本中提取总 DNA。使用 Qiagen 公司 Benzonase 核酸酶和 Sigma 公司 Tween20 试剂去除人 DNA^[12]。使用 Illumina 公司 Nextera XT DNA 文库制备试剂盒构建 DNA 样本文库^[13],Qubit dsDNA HS 试剂盒检测文库质量。采用 Agilent 公司 2100 生物分析仪高灵敏度 DNA 试剂盒进行评估,将文库池加载至 Illumina 公司 NextSeq 550Dx 测序仪,进行 75 次单端测序,为每个文库产生约 2 000 万读长(reads)。对于阴性对照,采用相同方案,每批提取 105 个细胞/mL Hela 细胞样本,与标本一起提取无菌去离子水作为非模板对照^[13]。

1.5 生物信息学分析

去除低质量读取、适配器污染、重复读取以及 <50 bp 读长。使用默认参数删除低复杂度读取^[14]。利用对齐软件识别和排除人类参考基因组(hg38)。依据美国 Johns Hopkins 大学 ABX 指南(www.hopkinsguides.com/hopkins/index/Johns_Hopkins_ABX_Guide/Pathogens)及临床微生物学手册选择病原体列表。最终数据库由约 13 000 个基因组组成。微生物读长的核苷酸比对程序为 SNAP v1.0beta 18。为了减少密切相关微生物间跨物种失调,一旦出现共享一个属/科名称微生物,则降低共享一个属/科名称种/属每百万次读取(RPM),对物种给予 5%降低^[15]。将细菌种类计数及相对丰度表输入 V4.1.0 版 R 语言软件作统计学分析,通过 2.5.7 版 Vegan 软件包于不同水平数据评估每例受试者微生物区系 Alpha 多样性,包括 Shannon 指数、Chao1 指数、Simpson 指数,以及 Richness 指数、ACE 指数、Evenness 指数。不同组别微生物群结构总体差异比较,基于 Bray-Curtis 距离采用主成分分析(PCA)和主坐标分析(PCoA)法排序,实现其属或物种级组成谱样本聚类可视化。PCoA 排序结果由 1.7.18 版

ade4 软件包中“dudi.pco”功能表示。采用效应量线性判别(LEfSe)分析确定特定微生物种或属与组间关联。

1.6 统计学方法

对符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异比较用独立样本 *t* 检验;对不符合正态分布的计量数据比较用 Wilcoxon 检验。计数数据以百分比描述,组间差异比较用卡方检验。物种多样性分析以 $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

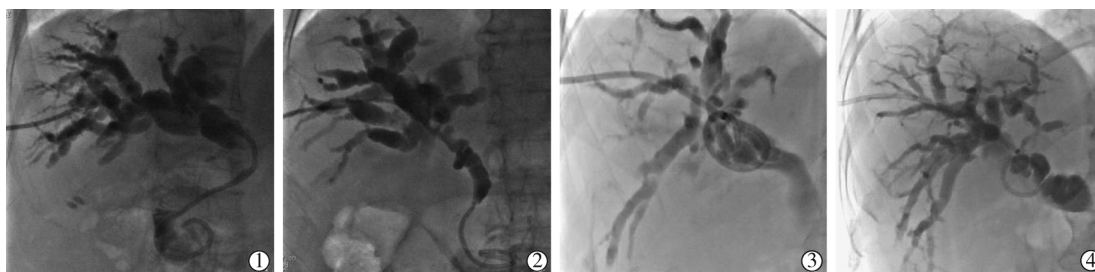
在手术室无菌采集肝供体正常胆汁样本 10 份,其中 5 份从胆囊抽取,5 份从无缺血状态下胆总管抽取肝脏持续分泌的胆汁,仅用于 HTS 分析。32 例胆道恶性梗阻患者中胆管细胞癌 15 例,胰腺癌 10 例,肝细胞癌 3 例,肝门淋巴结转移瘤(胃肠道肿瘤)4 例。MBO 组、BD 组胆汁培养阳性率分别为 15.63%(5/32)、71.88%(23/32),两组比较差异有统计学意义。18 例接受过内外引流患者中有 17 例胆汁培养阳性,14 例接受过外引流患者中有 5 例胆汁培养阳性。PTCD 后影像见图 1。

2.2 无肝胆病变胆管胆道微生物群

不动杆菌属和伯克霍尔德菌属细菌在所有胆汁样本微生物群落中普遍存在(图 2①②),分枝杆菌和诺卡菌相对丰度在对照组较高,在 MBO 组和 BD 组均减少明显(图 2③④)。Alpha 多样性分析显示,对照组、MBO 组、BD 组 Shannon 指数分别为 5.31 ± 1.00 、 3.98 ± 1.55 、 2.01 ± 1.44 ,对照组最高;样本间 Beta 多样性分析显示,对照组、MBO 组、BD 组各组内值 Bray-Curtis 距离分别为 0.69 ± 0.07 、 0.75 ± 0.07 、 0.81 ± 0.08 ,对照组最小。以上结果提示对照组胆汁微生物群物种多样性较高,在各样本间组成和丰度变化较小。

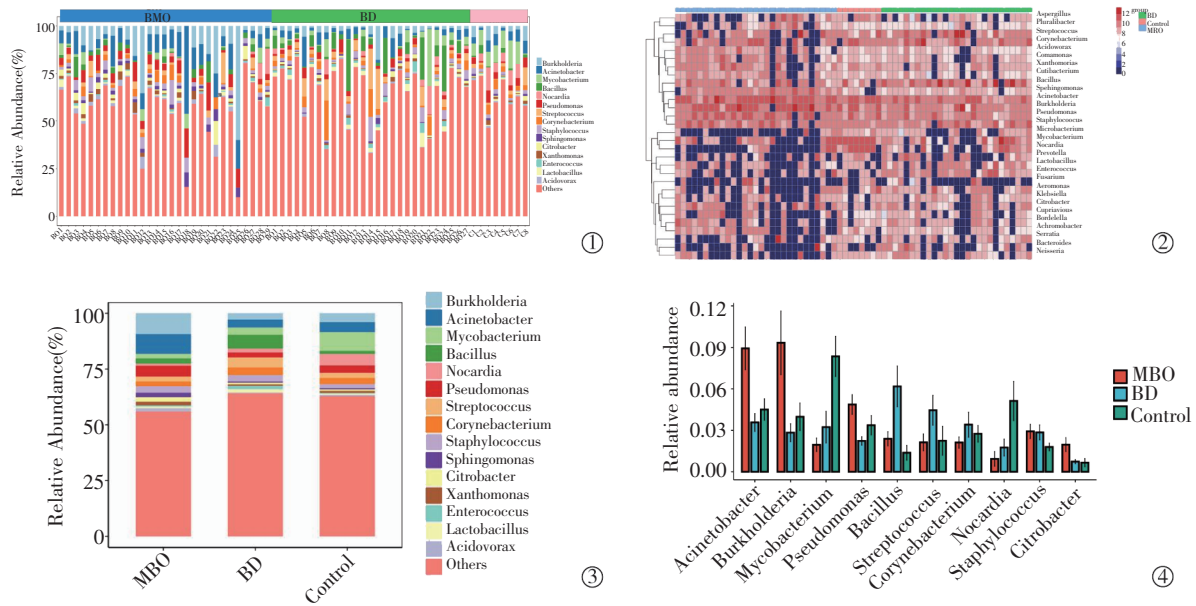
2.3 恶性梗阻胆道微生物群

MBO 组与对照组相比,胆汁微生物群中伯克霍



①胆管细胞癌内外引流;②胰腺癌内外引流;③胰腺癌外引流;④肝门部淋巴结转移瘤外引流

图 1 恶性胆道梗阻患者 PTCD 后影像



①样本菌群结构属水平前 15 优势物种的菌群结构柱状图(不同颜色表示不同微生物物种,纵轴为物种相对丰度,横轴为样本编号);②属水平前 30 种优势物种在不同组间聚类分布图(行表示 1 个物种,列表示 1 个样本,颜色深浅表示细菌丰度,棕色区域为物种富集,蓝色区域为物种缺失);③不同组别微生物构成图(不同颜色表示不同微生物物种,纵轴为物种相对丰度,横轴为不同组别);④不同组别微生物群落属水平前 10 优势物种相对丰度柱状图(颜色表示不同组别,横坐标表示不同优势物种)

图 2 无肝胆病变胆管胆道微生物群图示

尔德菌属、不动杆菌属、假单胞菌属和葡萄球菌属相对丰度均有所增加,分枝杆菌属和诺卡菌属相对丰度减少(图 2④)。Alpha 多样性分析显示,MBO 组仅 Richness 指数与对照组相比差异有统计学意义,其他指标差异均无统计学意义;表明 MBO 组胆汁微生物群丰度有所下降(图 3①)。PCoA 分析显示,MBO 组与对照组胆汁微生物群组成差异不明显(图 3②)。以上结果提示,恶性梗阻胆道内微生物与无病变胆道内相似,部分菌种如分枝杆菌属和诺卡菌属数减少,导致伯克霍尔德菌属、不动杆菌属等菌属相对丰度增加。LEfSe 分析使用默认截断值线性判别分析(LDA)评分为 3,即 LDA 评分 > 3 物种为有差异物种,可视为组间有统计学差异的生物学标记物(图 3③),结果显示伯克霍尔德菌、鞘氨醇菌、甲基杆菌、芽孢杆菌、大肠杆菌、多杆菌及微球菌为 MBO 组特征菌属,对照组与 MBO 组标志性菌种间呈正相关关系(图 3④)。

2.4 PTCD 术后胆道微生物群

BD 组 Shannon 指数为 2.01 ± 1.44 , 与对照组 5.31 ± 1.00 和 MBO 组 3.98 ± 1.55 相比明显减小,差异均有统计学意义;评估物种均匀度 Evenness 指数,BD 组与其他两组差异也有统计学差异(图 3①);表明 BD 组胆汁样本微生物群落的物种多样性和均匀度降低,提示 PTCD 后胆道菌落内出现优势物种,并

抑制其他菌种生长。与 MBO 组相比,BD 组不动杆菌、伯克霍尔德菌及假单胞菌属相对丰度明显降低,诺卡菌、芽孢杆菌和链球菌属相对丰度明显增加;表明 PTCD 后胆道内芽孢杆菌属丰度显著升高,其余大部分细菌相对丰度降低,导致微生物群落物种多样性下降。样本间 Beta 多样性分析结果显示,BD 组胆汁样本微生物群落 Bray-Curtis 值 (0.81 ± 0.08) 为最大值,提示 BD 组各样本间物种组成差异较大,PTCD 后使胆道微生物群落异质性增加。PCoA 分析结果显示,BD 组胆汁微生物结构与对照组及 MBO 组均存在差异。LEfSe 分析发现,葡萄球菌、克雷伯菌、肠杆菌、气单胞菌、副球菌、厌氧球菌、双球菌、弯曲杆菌、巨杆菌等为 BD 组具有显著鉴别特征的菌属(图 3③)。Spearman 相关性分析显示,BD 组胆汁样本中特征性菌种与 MBO 组特征性菌种多呈负相关关系(图 3④),即两组间特征性菌种呈相互竞争关系。

3 讨论

人们关于人类胆道微生物群的知识一直匮乏,健康胆管中存在微生物群的观点尚未被广泛接受。传统观点认为,Oddi 括约肌作为一解剖屏障可保护胆道免受十二指肠细菌入侵,胆汁持续冲洗作用及胆盐抑菌作用可维持胆道系统无菌条件^[1-2]。1995 年

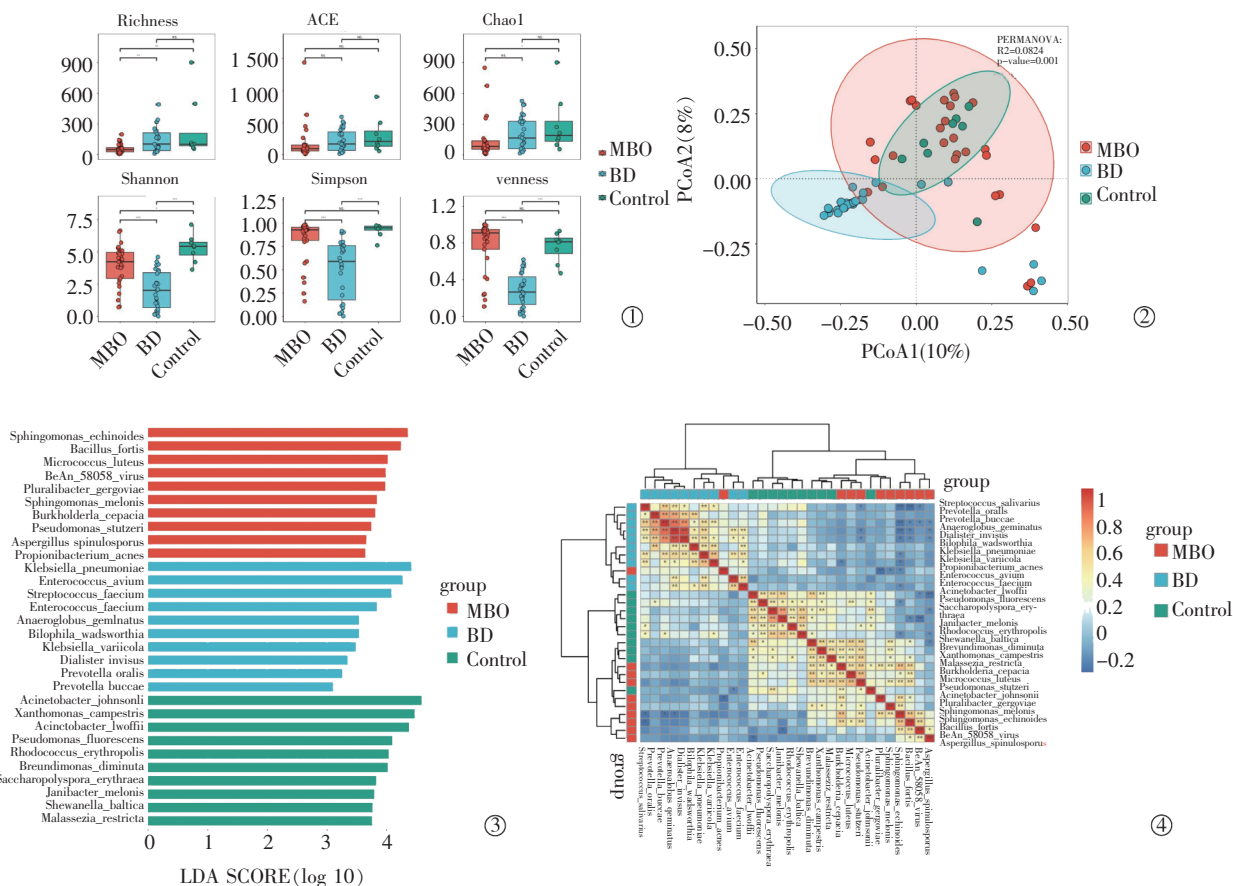


图3 恶性梗阻胆道微生物群图示

①Alpha 多样性指数箱型图(横坐标表示不同组别,纵坐标为 Alpha 指数),BD 组 Shannon、Simpson、Evenness 指数与其他两组相比差异有统计意义(均 $P < 0.01$),对照组与 MBO 组相比差异无统计学意义(均 $P > 0.01$),MBO 组 Richness 指数与对照组及 BD 组相比差异有统计学意义(均 $P < 0.01$);②3 组胆汁微生物群 Beta 多样性 PCoA 分析(每个点表示一样本,两点间距离表示群落组成差异,距离越短差异越小);③LEfSe 分析特征性菌种(LDA 评分 > 3.0),不同颜色表示不同组别,左侧为菌种名称;④生物标志物细菌种类分布热图(横轴、纵轴坐标表示特征性物种,不同颜色表示不同组,热图内颜色表示微生物物种间 Spearman 相关系数,棕色为正相关,蓝色为负相关,颜色深浅表示相关系数大小)

有研究发现,健康的胆道系统很可能含有一复杂的微生物群落,并提出“胆道微生物群”概念^[3]。关于人类胆汁微生物组成,由于以下原因迄今尚无完整详细描述:①传统实验室胆汁细菌培养低估了细菌种群的多样性^[16];②胆汁标本采集技术如经内镜逆行胰胆管造影(ERCP)、PTCD 或外科手术,均为侵入性操作,仅用于已有病变胆管或怀疑病变胆管;③由于伦理原因,健康个体胆汁不可通过侵入性操作获取;④传统微生物鉴定技术对于微生物低负荷样本的灵敏度不足。2019 年, Molinero 等^[4]通过收集 13 例无胆道病变肝移植供者胆囊胆汁样本,使用定量聚合酶链反应(PCR)及 16SrRNA 测序技术,首次检测到无胆道病变者胆囊胆汁中存在微生物群落。正常情况下肝细胞分泌的胆汁进入毛细胆管,经胆囊管进入胆囊浓缩储存^[17]。上述研究仅描述胆囊胆汁微生物群,胆道系统不同部位微生物群组成是否相同尚未可知。本研究对照组中不仅采集有肝移植

胆囊胆汁,还有在无缺血肝移植过程中离体供肝持续分泌并通过胆总管收集的胆汁;对照组胆囊和胆总管内胆汁样本中微生物群组成差异最小、物种多样性指数较大,证明胆管与胆囊内微生物群组成相近,无肝胆病变胆道系统内存在一稳定微生物群,这将改变对胆道感染性疾病的认识。

胆道菌群与恶性肿瘤研究主要集中在特定胆道菌群与胆道系统肿瘤关系方面,胆囊癌患者胆汁培养阳性率(65%~81%)明显高于胆石症患者和对照组^[18]。远端胆管细胞癌患者胆汁与胆管结石相比,芽单胞菌门、硝化螺旋菌门、绿弯菌门、匿杆菌门、浮霉菌门等菌种更为常见,并以大肠埃希菌属/志贺菌属、葡萄球菌属、克雷伯菌属、肠杆菌属和粪肠杆菌属相对丰度明显升高^[19]。有研究采用 16SrRNA 测序技术比较 100 例肝外胆管癌患者和 100 例胆道良性病变患者胆道微生物群,发现所有胆汁优势菌均为变形菌门(平均约 60%),嗜酸菌属、梭形杆菌属、

普雷沃特菌属、螺杆菌属及弯曲杆菌属是肝外胆管癌中最常见菌属;肝外胆管癌患者胆汁样本中均检测出与幽门螺杆菌相关的毒力基因,提示幽门螺杆菌在胆道中可能具有致癌作用^[20]。该研究显示胆管癌和良性胆道病变胆道微生物群组成不同。本研究比较恶性梗阻胆道与无病变胆道微生物群落,结果显示胆道微生物群落丰度有所下降,但胆道微生物多样性并未明显下降,两者胆汁微生物群组成相似、与研究报道^[20]一致,说明梗阻的胆道系统对细菌仍有抑制作用;恶性梗阻胆道组胆汁阳性率仅为 15.63%(5/32),表明恶性梗阻比良性梗阻更少发生感染,与既往研究^[21]结果相近;还发现恶性梗阻胆道中伯克霍尔德菌属、不动杆菌属、假单胞菌属和葡萄球菌属相对丰度均有所增加,且伯克霍尔德菌、鞘氨球菌、甲基杆菌、芽孢杆菌、大肠杆菌、多杆菌和微球菌可被定义为恶性梗阻胆道微生物群的特征菌属^[20]。这些细菌大多难以常规培养出,却可在极端条件下生存。本研究对恶性梗阻胆道微生物群落特征菌属(种)的研究结果与文献报道的研究结果^[18-20]有所差别,可能原因有:①研究对象不同。既往研究仅纳入胆管癌,本研究包含胆管癌、肝细胞癌及转移瘤等。②操作技术不同。既往研究主要使用 ERCP 行胆汁样本采集,增加了胆汁被肠道细菌污染风险,本研究于 PTCD 未放引流管前采集肝内胆管胆汁,胆汁基本不会被肠道细菌污染。③人种、饮食习惯不同。既往研究报道多为欧美国家人群,本研究为国人,也是影响胆道菌群改变的重要因素。

严重恶性胆道梗阻患者往往伴发肝功能及其他脏器损伤,需要 ERCP 或 PTCD 引流改善肝功能及全身状况,便于后续手术治疗或化疗,这两种胆道操作会将微生物群引入胆道,手术相关总体感染率>60%,两者感染率相似^[22-23]。Tabibian 等^[21]研究发现,118 例接受手术的壶腹周围癌患者中有 22 例(18.6%)胆汁中观察到细菌生长,术前接受 ERCP 治疗患者胆汁培养阳性率上升至 97%;强调括约肌切开术与胆道支架植入术对胆汁细菌定植有显著影响。PTCD 后胆道最常见并发症为急性胆管炎,部分患者可发展成菌血症,死亡率约 8.2%^[23]。胆道支架植入术已被证明可诱导显著的胆汁微生物群转移,并与外科术后手术部位感染发生有较高的风险相关,恶性梗阻伴胆管炎患者均有支架植入史^[24-25]。本研究中 BD 组胆汁培养阳性率为 71.88%,内外引流胆汁培养阳性率升至 94.44%,表明胆道引流后胆

汁被细菌污染概率明显升高。了解胆道引流对胆道微生物群的影响,有助于进一步提高对胆道引流及胆道微生物群的认知水平。有研究表明某些入侵胆道的细菌可改变胆道微生物组成,进而影响胆汁肿瘤抑制作用^[26]。本研究中 BD 组微生物群组成中部分细菌如芽孢杆菌属等相对丰度较 MBO 组显著升高,其余大部分细菌的相对丰度均降低,微生物群落物种多样性下降;BD 组各样本间物种组成差异较大,微生物群组成与正常组及 MBO 组也存在明显差异;提示胆道引流后胆道微生物群落发生了菌群失调。Stecca 等^[27]研究中试图确定术前胆道引流应用与胰十二指肠切除术后发病率是否相关,结果显示术前胆道引流组患者主要微生物群为克雷伯菌属(48%)、肠球菌属(29%)、大肠杆菌属(27%)及念珠菌属(21%)。本研究中 BD 组特征菌属大多为人类常见病原体如葡萄球菌、克雷伯菌、肠杆菌、气单胞菌等以及肠道菌群,与 MBO 组特征性菌种呈负相关;提示胆道引流使某些人类致病菌进入胆道并成为优势物种,通过竞争抑制胆道内其他细菌的生长、大量繁殖导致胆道菌群失调。这种菌群失调可能随着更具有侵袭性优势菌种入侵持续发生,导致发生新的胆道感染,因此患者持续感染时需要再次行胆汁培养,调整临床用药。本研究中第 2 次胆汁采集均在抗生素应用前,故未分析抗生素应用后胆汁微生态。

[参考文献]

- [1] Sung JY, Costerton JW, Shaffer EA. Defense system in the biliary tract against bacterial infection[J]. Dig Dis Sci, 1992, 37: 689-696.
- [2] Costello EK, Lauber CL, Hamady M, et al. Bacterial community variation in human body habitats across space and time[J]. Science, 2009, 326: 1694-1697.
- [3] Swidsinski A, Ludwig W, Pahlig H, et al. Molecular genetic evidence of bacterial colonization of cholesterol gallstones[J]. Gastroenterology, 1995, 108: 860-864.
- [4] Molinero N, Ruiz L, Milani C, et al. The human gallbladder microbiome is related to the physiological state and the biliary metabolic profile[J]. Microbiome, 2019, 7: 100.
- [5] Yokoe M, Hata J, Takada T, et al. Tokyo guidelines 2018: diagnostic criteria and severity grading of acute cholecystitis (with videos)[J]. J Hepatobiliary Pancreat Sci, 2018, 25: 41-54.
- [6] 杨毅,韩鸿宇,陈欢,等.磁共振胰胆管成像与弥散加权成像联合 CT 增强扫描对恶性胆道梗阻的诊断价值[J]. 分子影像学杂志, 2022, 45: 833-837.
- [7] 孙琦超,褚佳琦,徐培文,等.磁共振胰胆管成像技术联合血清 CA19-9 水平在恶性胆道梗阻中的诊断价值[J]. 中国实验诊

- 断学, 2022, 26:1689-1691.
- [8] 李海, 葛乃建, 何成建, 等. IQQA-3D 精准评估在肝门胆管癌经皮穿肝胆管引流术及经皮胆道支架植入术治疗中的应用[J]. 介入放射学杂志, 2022, 31:875-878.
- [9] 黄道琼, 沈小叶, 刘骏, 等. 回授法在经皮肝穿刺胆管引流术后的应用[J]. 介入放射学杂志, 2022, 31:294-297.
- [10] 王雪英, 闻利红. 肝门部胆管癌患者 PTBD 术后长期置管引流的观察和护理体会[J]. 介入放射学杂志, 2016, 25:640-642.
- [11] 葛乃建, 黄剑, 杨业发, 等. 经皮胆管穿刺引流与经内镜鼻胆管引流胆管冷却保护技术在肝癌微波消融中的应用对比[J]. 介入放射学杂志, 2018, 27:35-39.
- [12] Amar Y, Lagkouvardos I, Silva RL, et al. Pre-digest of unprotected DNA by Benzonase improves the representation of living skin bacteria and efficiently depletes host DNA[J]. Microbiome, 2021, 9: 123.
- [13] Miller S, Naccache SN, Samayoa E, et al. Laboratory validation of a clinical metagenomic sequencing assay for pathogen detection in cerebrospinal fluid[J]. Genome Res, 2019, 29: 831-842.
- [14] Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data[J]. Bioinformatics, 2014, 30: 2114-2120.
- [15] Gu W, Deng X, Lee M, et al. Rapid pathogen detection by metagenomic next-generation sequencing of infected body fluids [J]. Nat Med, 2021, 27: 115-124.
- [16] Crawford E, Kamm J, Miller S, et al. Investigating transfusion-related sepsis using culture-independent metagenomic sequencing [J]. Clin Infect Dis, 2020, 71: 1179-1185.
- [17] 吴志宇, 赵立新, 王瑛. 胆道流体力学的研究进展[J]. 肝胆胰外科杂志, 2011, 23: 523-525.
- [18] Tamanai-Shacoori Z, Smida I, Bousarghin L, et al. Roseburia spp.: marker of health?[J]. Future Microbiol, 2017, 12: 157-170.
- [19] Rossen NG, Fuentes S, Boonstra K, et al. The mucosa-associated microbiota of PSC patients is characterized by low diversity and low abundance of uncultured Clostridiales II [J]. J Crohns Colitis, 2015, 9: 342-348.
- [20] Chandrasekhara V, Khashab MA, Muthusamy VR, et al. Adverse events associated with ERCP[J]. Gastrointest Endosc, 2017, 85: 32-47.
- [21] Tabibian JH, O'Hara SP, Trussoni CE, et al. Absence of the intestinal microbiota exacerbates hepatobiliary disease in a murine model of primary sclerosing cholangitis [J]. Hepatology, 2016, 63:185-196.
- [22] Pereira P, Aho V, Arola J, et al. Bile microbiota in primary sclerosing cholangitis: impact on disease progression and development of biliary dysplasia[J]. PLoS One, 2017, 12: e0182924.
- [23] Folseraas T, Melum E, Rausch P, et al. Extended analysis of a genome-wide association study in primary sclerosing cholangitis detects multiple novel risk loci[J]. J Hepatol, 2012, 57: 366-375.
- [24] Garrett WS. Cancer and the microbiota[J]. Science, 2015, 348: 80-86.
- [25] Sheflin AM, Whitney AK, Weir TL. Cancer-promoting effects of microbial dysbiosis[J]. Curr Oncol Rep, 2014, 16: 406.
- [26] Okuda S, Hirose Y, Takihara H, et al. Unveiling microbiome profiles in human inner body fluids and tumor tissues with pancreatic or biliary tract cancer[J]. Sci Rep, 2022, 12: 8766.
- [27] Stecca T, Nistri C, Pauletti B, et al. Bacteriobilia resistance to antibiotic prophylaxis increases morbidity after pancreaticoduodenectomy: a monocentric retrospective study of 128 patients[J]. Updates Surg, 2020, 72: 1073-1080.

(收稿日期:2023-04-22)

(本文编辑:谷珂)