

蒸大蒜多糖抗幼年大鼠菌群失调性腹泻的作用及机制

李亚荣¹, 郭梦雨¹, 于垠廷¹, 周浓^{1,2}, 李伟东^{1*}

(1. 南京中医药大学药学院, 江苏省中药炮制重点实验室, 南京 210023;

2. 重庆三峡学院生物与食品工程学院, 重庆 404020)

[摘要] **目的:**验证蒸大蒜多糖抗幼年大鼠菌群失调性腹泻的药效,采用16S rRNA技术探究其对幼年菌群失调性腹泻大鼠肠道菌群的调节作用。**方法:**将SD幼年大鼠随机分为空白组、模型组、双歧杆菌三联活菌胶囊组(西药组)、蒸大蒜多糖高剂量组、低剂量组,每组6只。建立菌群失调性腹泻模型,正常组与模型组给予生理盐水灌胃,给药剂量均为10 mL·kg⁻¹,高剂量组给予500 mg·kg⁻¹蒸大蒜多糖,低剂量组给予250 mg·kg⁻¹蒸大蒜多糖进行治疗,连续干预7 d,每天1次。以稀便率、稀便级、腹泻指数、小肠推进率、苏木素-伊红(HE)染色为指标考察蒸大蒜多糖改善幼年大鼠腹泻症状的作用。收集大鼠的粪便,进行16S rRNA高通量测序并分析其结果。**结果:**与模型组比较,西药组与蒸大蒜多糖高、低剂量组幼年大鼠一般情况明显好转,平均稀便率及腹泻指数显著下调($P<0.01$),小肠推进率明显降低($P<0.05$),HE染色显示蒸大蒜多糖治疗之后,结肠组织炎性细胞浸润改善,肠腺组织结构恢复趋于正常,其他结构无异常,说明蒸大蒜多糖能显著改善幼年大鼠的腹泻状况。菌群测序结果可知,蒸大蒜多糖对幼年菌群失调性腹泻模型大鼠菌群丰度有调节作用,提高幼年菌群失调性腹泻模型大鼠菌群生物丰富度指数与多样性指数,其中拟杆菌门(Bacteroidota)丰度增加,厚壁菌门(Firmicutes)与变形菌门(Proteobacteria)丰度降低。**结论:**蒸大蒜多糖能够通过调节菌群丰度,从而起到治疗幼年大鼠菌群失调性腹泻的作用。

[关键词] 大蒜多糖; 蒸制; 腹泻; 药效; 机制

[中图分类号] R285;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)13-0077-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220814 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220406.1844.002.html>

[网络出版日期] 2022-04-07 11:13

Effect and Mechanism of Steamed Allii Sativi Bulbus Polysaccharide Against Dysbiosis-induced Diarrhea in Young Rats

LI Yarong¹, GUO Mengyu¹, YU Yinting¹, ZHOU Nong^{1,2}, LI Weidong^{1*}

(1. Jiangsu Provincial Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, School of Pharmacy,

Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;

2. College of Biology and Food Engineering, Chongqing Three Gorges University,

Chongqing 404020, China)

[Abstract] **Objective:** To verify the efficacy of steamed Allii Sativi Bulbus polysaccharide in regulating the intestinal flora of young dysbiosis-induced diarrhea rats based on 16S rRNA gene sequencing. **Method:** The young SD rats were randomly divided into blank group, model group, positive drug group (bifid triple viable capsules), and high-dose and low-dose steamed Allii Sativi Bulbus polysaccharide groups, six in each group. The dysbiosis-induced diarrhea rat model was established, and the blank group and the model group were given normal saline by gavage (each 10 mL·kg⁻¹), and the high-dose and low-dose steamed Allii Sativi Bulbus polysaccharide groups were administered with corresponding drugs (500 mg·kg⁻¹ and 250 mg·kg⁻¹, respectively),

[收稿日期] 2022-01-11

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81773902,81973484)

[第一作者] 李亚荣,在读硕士,从事中药炮制机制研究,E-mail:20190390@njucm.edu.cn

[通信作者] *李伟东,研究员,从事中药炮制机制研究,E-mail:liweidong0801@163.com

once a day for seven consecutive days. The loose stool rate, loose stool grade, diarrhea index, small intestine propulsion rate and hematoxylin-eosin (HE) staining were used as indexes to investigate the effect of steamed *Allii Sativi Bulbus polysaccharide* on improving diarrhea symptoms in young rats. The feces of rats were collected for 16S rRNA gene high-throughput sequencing. **Result:** Compared with the model group, the positive drug group and the high-dose and low-dose steamed *Allii Sativi Bulbus polysaccharide* groups had alleviated symptoms, down-regulated loose stool rate and diarrhea index ($P<0.01$) and decreased small intestine advancement rate ($P<0.05$). HE staining showed that after the treatment with steamed *Allii Sativi Bulbus polysaccharide*, the inflammatory cell infiltration of the colon tissue was improved and the intestinal gland recovered to the normal condition, which indicated that steamed *Allii Sativi Bulbus polysaccharide* could significantly ameliorate the diarrhea in young rats. The sequencing results revealed that steamed *Allii Sativi Bulbus polysaccharide* had a moderating effect on the abundance of the intestinal flora of young dysbiosis-induced diarrhea rats, elevating the flora richness and diversity indexes. Specifically, the abundance of Bacteroidota was increased while that of Firmicutes and Proteobacteria was decreased. **Conclusion:** Steamed *Allii Sativi Bulbus polysaccharide* can be used to treat dysbiosis-induced diarrhea in young rats by regulating the abundance of intestinal microbiota.

[Keywords] *Allii Sativi Bulbus polysaccharide*; steaming; diarrhea; efficacy; mechanism

腹泻是一种胃肠道疾病^[1],据世界卫生组织(WHO)和联合国儿童基金会(UNICEF)数据显示,全球每年约有22亿腹泻病例^[2],而<5岁的患儿约占27.25%^[3]。腹泻病仍然是低收入和中等收入国家5岁以下儿童死亡的主要原因^[4]。菌群失调性腹泻在中医学中称为“泄泻”^[5]。现在多用广谱抗生素治疗菌群失调性腹泻^[6]。由于小儿肝肾功能不健全,免疫功能不完善,抗生素引起的毒性反应可导致小儿幼嫩机体生理功能或者组织结构发生改变^[7]。因此,寻找一种安全有效无不良反应的治疗手段十分重要。

大蒜为百合科葱属植物蒜 *Allium sativum* 的鳞茎,具有解毒消肿、杀虫、止痢的功效,主治痈肿疮疡、泄泻、痢疾。大蒜以无过敏反应、无不良反应、无耐药性等优点而一直被广泛使用^[8]。《本草纲目》曰:“治泄泻暴痢及干湿霍乱”。由于生大蒜味道大且刺激性太强,一般不会直接使用生大蒜,因此经常需要经过处理之后再使用^[9]。查阅文献发现,药王孙思邈就曾经用蒸大蒜治疗小儿腹泻^[10]。蒸制是中药传统的炮制方法之一,其目的在于改变药性,增强疗效^[11]。课题组前期研究表明,蒸大蒜可以治疗菌群失调性腹泻。

大蒜中主要含有蒜氨酸^[12]、蒜氨酸酶^[13]、大蒜素^[14]、大蒜多糖^[15]等多种生物活性成分。文献报道,多糖作为一种益生元,具有不良反应小,安全性高^[16]的特点,可以有效地促进肠道益生菌的增殖^[17],改变肠道中微生物菌群比例治疗腹泻^[18]。大

部分中药多糖可通过调节肠道菌群的比例,增加有益菌,减少有害菌从而改善机体的健康水平^[19]。

蒸大蒜中的多糖是否可以通过调节肠道菌群从而治疗腹泻还未见报道。本文首先建立了蒸大蒜多糖的提取工艺,然后通过动物实验验证蒸大蒜多糖对幼年菌群失调性腹泻大鼠的治疗作用,进而研究其对幼年大鼠肠道菌群的影响,为蒸大蒜多糖临床治疗小儿菌群失调性腹泻提供新的实验依据。

1 材料

1.1 试药 大蒜(河南,开封),头孢拉定胶囊(扬子江药业集团有限公司,批号H32020984,规格0.1 g/粒),硫酸庆大霉素(大连美仑生物技术有限公司,批号00420A,规格5 g/瓶),双歧杆菌三联活菌胶囊(上海信谊药厂有限公司,批号S10950032,规格0.21 g/粒),木瓜蛋白酶(活力单位>200 U·mg⁻¹,北京博奥拓达科技有限公司,批号9001-73-4),纤维素酶(活力单位>15 000 U·g⁻¹,国药集团化学试剂有限公司,批号F20090831),果胶酶(活力单位>1万 U·g⁻¹,上海楷洋生物技术有限公司,批号090303),无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司,批号20211012),二甲苯(南京化学试剂有限公司,批号13080311128),苏木素-伊红(HE)染液试剂盒(江苏凯基生物技术股份有限公司,批号KGA224),中性树胶(国药集团化学试剂有限公司,批号10004160),E.Z.N.A.® Soil DNA Kit型DNA抽提试剂盒(美国Omega Bio-Tek公司,批号M963020000C17V002),MiSeq Reagent Kit v3型测序试剂盒(美国

Illumina公司,批号2060747)。

1.2 仪器 2000 Y型多功能粉碎机(铂欧五金制品有限公司), ATY 124型1/1万天平(岛津公司), Labconco 4.5型LABCONCO冷冻干燥干燥机(北京照生行仪器设备有限公司), Synergy H1型酶标仪(美国Thermo公司), KQ-500 E型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), Eppendorf 5424R型离心机[科至达(北京)信息技术有限公司], Milli-Q型超纯水制备仪(美国Millipore公司), Leica RM2016型病理切片仪(上海徠卡仪器有限公司), JT-12J型脱水机、JB-L5型包埋机、JK-6型组织摊片机、JB-L5型冻台(武汉俊杰电子有限公司), Eclipse 80i型显微镜(上海衡浩仪器有限公司)。

1.3 实验动物 30只雄性SD幼年大鼠(SPF级), 体质量(60±5)g, 由浙江省医学科学院提供。动物合格证号SCXK(浙)2019-0002。实验大鼠在室温中饲养, 湿度(60±5)%, 标准光照, 自由饮水, 标准营养颗粒饲料喂养(含钙1.0%, 磷0.6%)。动物实验程序获得南京中医药大学机构动物护理与使用委员会批准(伦理授权号202005A029)。所有的动物都是按照机构的指导方针和道德规范处理。

2 方法

2.1 蒸大蒜多糖的提取 通过响应面法确定蒸大蒜多糖的最佳提取工艺^[20-21]。具体提取工艺, 生大蒜剥去外皮, 放于蒸锅中, 水沸腾之后蒸制1 h蒸熟, 晾干切碎, 冻干, 打粉, 得到蒸大蒜粉末。称取一定量的蒸大蒜粉末, 按照质量比加入2%木瓜蛋白酶, 2%纤维素酶, 3%果胶酶, 料液比1:10(g·mL⁻¹)加入超纯水, 混合均匀, 调节超声波清洗机的功率175 W、温度50℃、时间30 min, 进行提取。提取结束, 于4 000 r·min⁻¹、离心10 min(离心半径9.95 cm, 下同), 取上清液, 残渣加同样水量混合均匀, 再次以同样条件超声提取第二次, 合并上清液, 以80%的无水乙醇沉淀12 h, 弃去上清, 重复醇沉3次, 加水复溶, 放置于-80℃预冻8 h后, 冻干机冻干, 即得蒸大蒜多糖粉末。

2.2 蒸大蒜多糖抗腹泻作用研究 将30只SD幼年大鼠随机分为5组, 每组6只。分别为空白组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、双歧杆菌三联活菌胶囊组(西药组, 给药剂量500 mg·kg⁻¹^[22])、蒸大蒜多糖高剂量组(高剂量组, 给药剂量500 mg·kg⁻¹^[23])、蒸大蒜多糖低剂量组(低剂量组, 给药剂量250 mg·kg⁻¹)。

适应性饲养5 d之后开始造模, 参照文献[24]

并加以改良进行菌群失调性腹泻大鼠模型的制备。造模方式为灌胃混合型抗生素, 硫酸庆大霉素和头孢拉定, 连续灌胃7 d进行造模, 以稀便率、稀便级、腹泻指数为腹泻造模成功指标。造模成功之后隔天开始灌胃给药。连续给药7 d, 每天1次。造模期间及恢复期间每天称量1次体质量, 并观察动物的毛发变化, 尾部肛门干净程度等。造模期间及恢复期每天将大鼠隔离观察, 笼底垫上滤纸。观察记录大鼠排便情况及大鼠表观特征的变化情况。稀便数根据石坤^[25]对粪便腹泻评分标准进行统计。其中稀便率、稀便级及腹泻指数的具体计算方法如下。稀便率=总排稀便点数/总排便点数×100%。稀便级表示每只大鼠稀便的程度, 以稀便污染滤纸的直径(d)定级, 分为4级; 1级, d<1 cm; 2级, d为1~2 cm; 3级, d为2~3 cm; 4级, d>3 cm。腹泻指数=稀便率×平均稀便级^[26]。

每组大鼠给药第7天当晚隔夜禁食12 h。次日对大鼠灌胃碳末(含5%活性炭粉和10%阿拉伯胶)2 mL, 30 min后脱颈椎处死大鼠, 取全段小肠, 测量小肠全段长度和墨水推进长度, 计算小肠墨汁推进率。小肠墨汁推进率=墨水推进长度/小肠全段长度×100%。

剥离结肠上段约2 cm处切断取下, 用生理盐水冲洗干净, 快速置10%甲醛溶液中固定, 进行HE染色评估大鼠病理评分。同时取各组大鼠粪便, 16S rRNA检测分析其菌群变化, 采用Illumina Miseq高通量测序平台对粪便标本中的16S rRNA基因进行定性分析。测序数据保存在美国国立生物技术信息中心(NCBI)的分区域行动方案数据库中。

2.3 统计学处理 采用SPSS 26.0和GraphPad Prism 7.0软件对本研究所得数据进行统计学处理和分析, 数据结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析。均以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠状态及稀便率、稀便级、腹泻指数变化的影响 实验期间, 空白组大鼠精神状态良好、大便成形、尾部肛门处干净未见红肿。其余4组大鼠造模后精神萎靡, 出现稀便现象, 尾部肛口周边毛发潮湿带粪便, 呈明显的腹泻症状; 给药后, 西药组与治疗组大鼠腹泻情况好转, 精神状态恢复, 7 d后, 西药组、蒸大蒜多糖高、低剂量组大鼠状态与空白组差异无统计学意义。腹泻情况结果见表1。

3.2 对大鼠小肠推进率变化的影响 各组大

表 1 蒸大蒜多糖对大鼠腹泻情况的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 1 Effect of diarrhea of rats by steamed *Allii Sativi Bulbus polysaccharide* ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	平均稀便率/%		平均稀便级		腹泻指数	
	给药前	给药后	给药前	给药后	给药前	给药后
模型组	0.88±0.21	0.82±0.39	1.33±0.37	1.38±0.27	1.18±0.37	1.08±0.36
西药组	0.85±0.06	0.21±0.82 ²⁾	1.28±0.47	0.92±0.87	1.07±0.32	0.27±0.80 ²⁾
高剂量组	0.89±0.39	0.10±1.56 ²⁾	1.43±0.26	0.50±0.70 ²⁾	1.26±0.41	0.11±1.24 ²⁾
低剂量组	0.90±0.08	0.17±0.98 ²⁾	1.26±0.19	0.67±1.67	1.13±0.24	0.15±1.63 ²⁾

注:空白组均为 1。与模型组比较 ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

鼠小肠推进率见表 2。与模型组比较,治疗组高剂量组与低剂量组小肠推进率均明显低于模型组($P<0.05, P<0.01$),且高剂量组效果优于低剂量组;与模型组比较,西药组具有显著治疗效果($P<0.01$)。表明蒸大蒜多糖能改善模型大鼠肠动力亢进状态。

3.3 各组大鼠结肠组织病理变化 空白组除固有层可见少量炎性细胞外,其他结构无异常。模型组腺体萎缩变短,部分上皮细胞脱落,有大量炎细胞浸润,腺体排列紊乱。与模型组比较,各治疗组症状均有所改善,其中,西药组基本恢复至正常水平。高剂量组腺体组织排列整齐,有少量炎细胞浸润,结肠组织病理切片与模型组比较情况明显好转,与

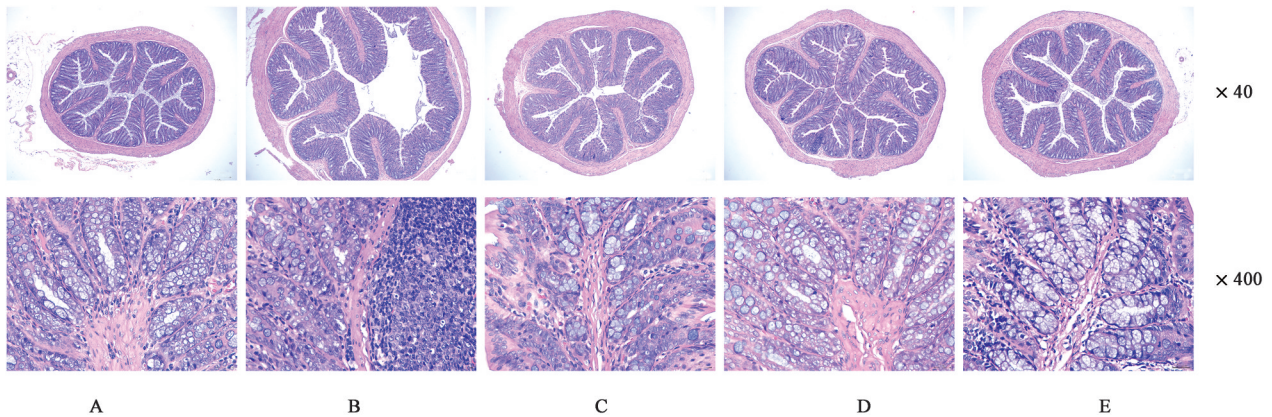
表 2 蒸大蒜多糖对大鼠小肠推进率的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 2 Effect of intestinal propulsion rate of rats by steamed *Allii Sativi Bulbus polysaccharide* ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	小肠推进率/%
空白组	53.25±0.03 ²⁾
模型组	63.80±0.10
西药组	53.87±0.09 ²⁾
高剂量组	53.37±0.08 ²⁾
低剂量组	55.98±0.03 ¹⁾

注:与模型组比较 ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

空白组已无明显差别。低剂量组固有层有少量炎性细胞浸润,肠腺组织情况得到改善,但没有高剂量组效果明显。见图 1。



注:A. 空白组;B. 模型组;C. 西药组;D. 高剂量组;E. 低剂量组

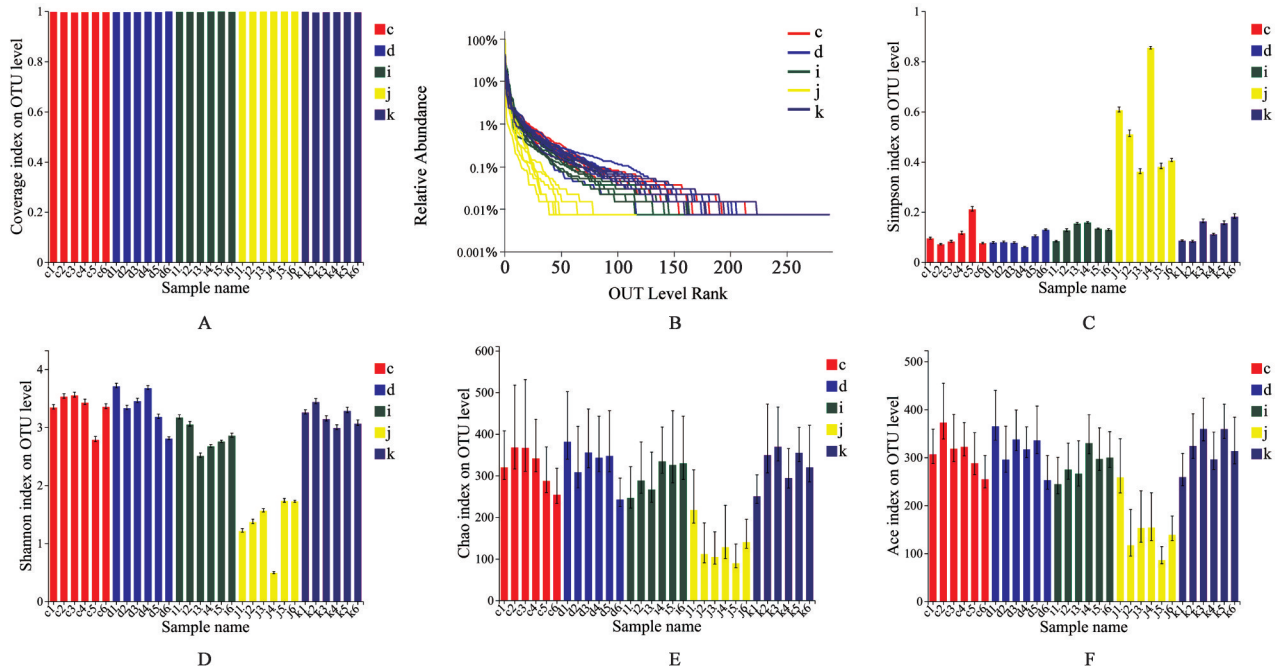
图 1 蒸大蒜多糖对大鼠结肠组织病理染色(HE)

Fig. 1 Pathological staining of colonic tissue of rats by steamed *Allii Sativi Bulbus polysaccharide* (HE)

3.4 各组菌群测序变化 菌群测序结果中,覆盖率(Coverage)指数均达到 99%,表明此次测序样本量充足,且样本序列基本被测出。说明测序结果能够反映样本的真实情况。丰度等级(Rank-abundance)曲线表明与空白组比较,模型组物种丰度和物种均匀度较小,说明模型建立成功,给药之后物种丰度和物种均匀度基本恢复正常水平。辛普森(Simpson)指数结果发现模型组群落多样性很低,

给药后,给药组群落多样性增加。香农(Shannon)指数显示与空白组比较,模型组大鼠肠道微生物的多样性很低,给药之后多样性基本恢复到与空白组相当的水平。Chao 指数说明与空白相比较,模型组群落丰度明显下降,给药后,群落丰度恢复。ACE 指数也是群落丰度指数,给药之后,群落丰度基本恢复至与空白组相当的水平。结合所有指数结果发现,与空白组相比,模型组物种丰度、群落均匀度

及菌群多样性均比较小,给药后趋近于与空白组相当的水平。见图2。



注:A. Coverage 指数;B. Rank-abundance 曲线;C. Simpson 指数;D. Shannon 指数;E. Chao 指数;F. ACE 指数;c. 高剂量组;d. 低剂量组; i. 西药组;j. 模型组;k. 空白组

图2 肠道菌群丰度等级曲线及Alpha多样性分析

Fig. 2 Rank-abundance curve and alpha diversity analysis of intestinal flora

门、属水平下基于 Bray-Curtis 距离的主坐标分析(PCoA),研究不同组别的群落组成表明,不同组别的群落组成存在明显差异。5个不同的组别样本群落组成具有明显差异。表明门、属水平下通过偏最小二乘法分析(PLS-DA)中的样本点分布的离散情况,不同组别菌群组成差异较大。以上结果均说明造模与治疗会影响大鼠群落组成的比例变化。见图3、图4。

门水平下各组肠道菌群组成及物种丰度分析。5组大鼠菌群种类差异不大,主要由厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、放线菌门(Actinobacteriota)和变形菌门(Proteobacteria)构成,其中 Firmicutes 和 Bacteroidetes 共占 80% 以上。Firmicutes 在模型组中丰度较高,在 90% 左右,在治疗组中丰度较低,丰度低于 80%;Actinobacteriota 在模型组中几乎没有,治疗组中相对丰度均有不同程度的增高。见图 5。

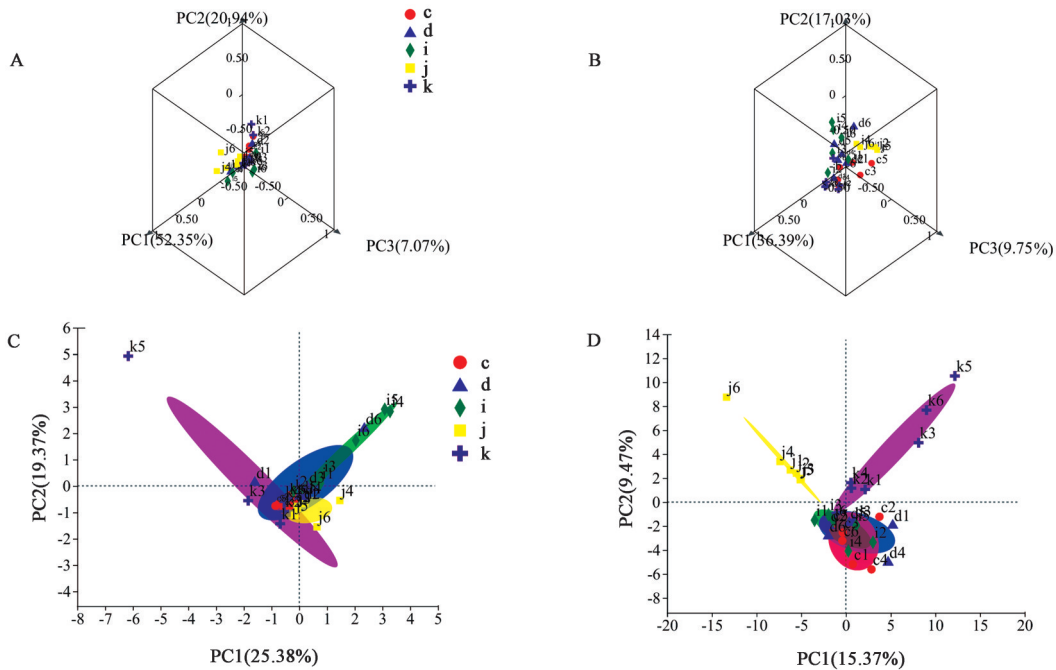
属水平下各组肠道菌群组成及物种丰度分析。5组大鼠相对丰度极高(>5%)的菌属种类差异不大,但菌属组成所占百分比不同,肠球菌属(Enterococcus)、乳杆菌属(Lactobacillus)、罗姆布茨菌属(Romboutsia)、norank_f_Muribaculaceae 菌属在

各组中均是相对丰度前 4 位的菌属。整体来看治疗组与空白组在菌属构成方面最为接近,而模型组和其他 4 组差异较大。具体来说,与模型组相比,其余 4 组 Lactobacillus 菌属的比例均比较高。

门水平下不同组别样品中优势菌种的组成是相似的,其中优势菌是 Firmicutes, Bacteroidetes 是第二优势菌, Actinobacteriota 是第三优势菌。门水平下 5 组 30 个样本共产生 44 个分类操作单元(OTU),其中 5 组共有的 OTU 为 8 个,空白组、模型组、西药组、高剂量组、低剂量组的 OTU 分别为 10、9、8、9、8 个。表明各组样本微生物组成种类相似,但组成比例发生变化。属水平下不同组别样品中优势菌种的组成是相似的,其中优势菌是 Enterococcus 菌属, Lactobacillus 菌属是第二优势菌, Romboutsia 菌属是第三优势菌。属水平下 5 组 30 个样本共产生 632 个 OTU,其中 5 组共有的 OTU 为 72 个,空白组、模型组、西药组、高剂量组、低剂量组的 OTU 分别为 139、100、130、131、132 个。同样表明各组样本微生物组成相似,但组成比例发生变化。见增强出版附加材料。

4 讨论

综合稀便率、稀便级、腹泻指数、结肠组织病理



注: A, B. 门水平; C, D. 属水平; A, C. PCoA; B, D. PCA; c. 高剂量组; d. 低剂量组; i. 西药组; j. 模型组; k. 空白组(图4同)
图3 门、属水平下样本beta多样性的PCoA及PCA分析

Fig. 3 Comparison of beta diversity and flora typing of samples at phylum and genus level by PCoA and PCA

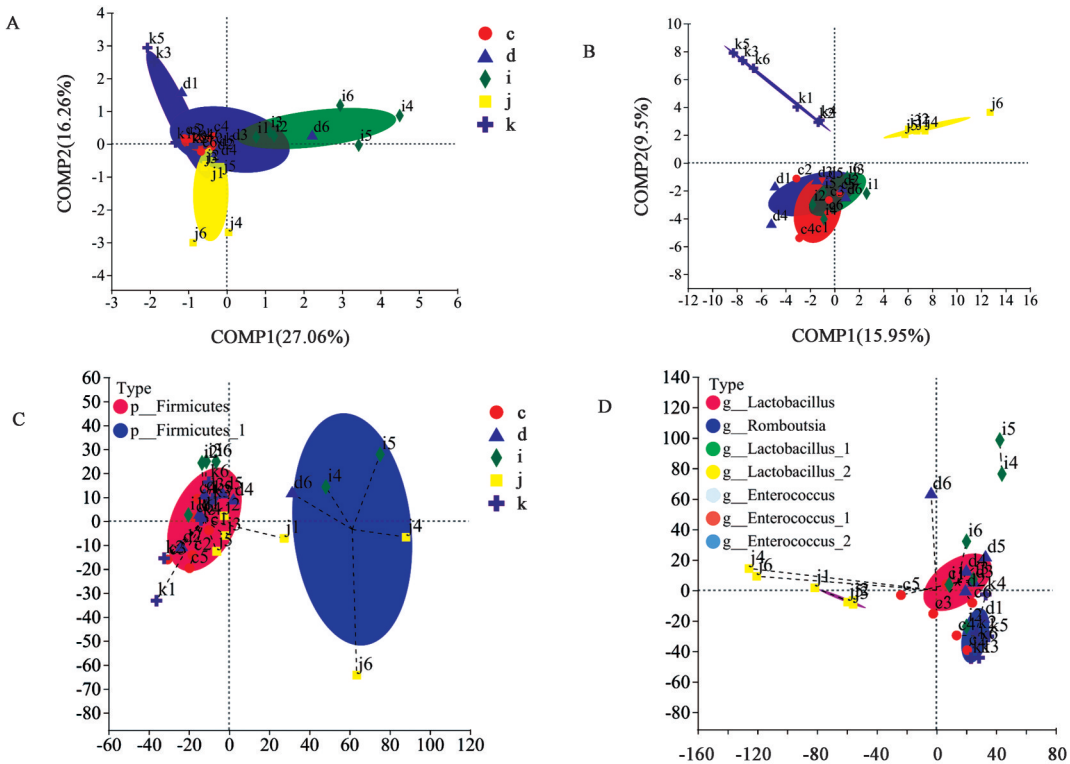
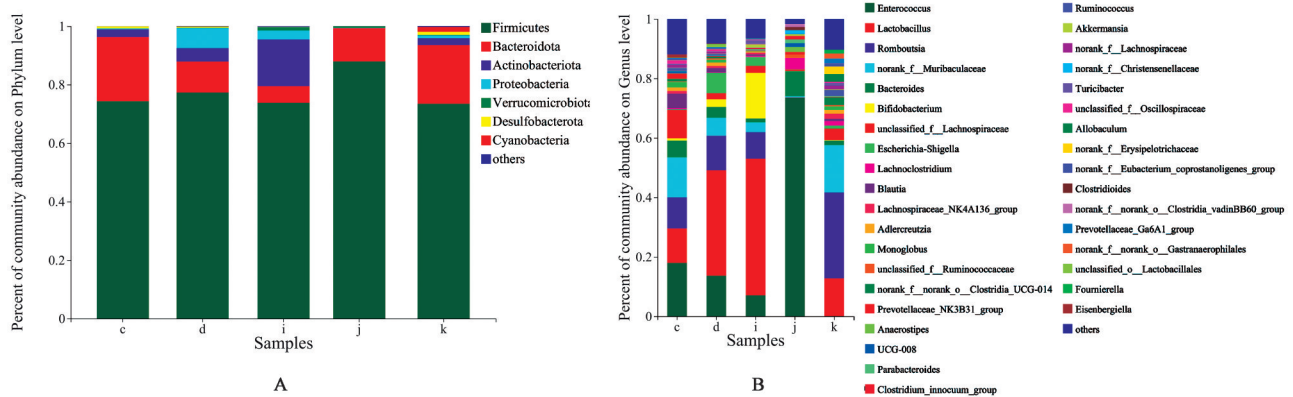


图4 门、属水平样本PLS-DA分析及菌群分型

Fig. 4 PLS-DA and flora typing of samples at phylum and genus level

病变等结果发现大蒜多糖对幼年大鼠菌群失调性腹泻有较好的治疗效果。菌群测序结果表明,门水平下治疗组肠道菌群组成及物种丰度分析,与模型组相比,西药组与给药组的厚壁菌门与变形菌门丰

度降低,拟杆菌丰度增加。给药组肠道中厚壁菌门与拟杆菌门的比值低于空白组,可能是机体吸收能量较低所致^[27]。其中厚壁菌门可促进宿主吸收或储存能量,拟杆菌门可通过降解碳水化合物、蛋白



注:A. 门水平下各组肠道菌群物种丰度柱状;B. 属水平下各组肠道菌群物种丰度柱状

图7 门及属水平上的肠道微生物相对丰度

Fig. 7 Relative abundance of intestinal microorganisms at the phylum and genus levels

质等,促进宿主吸收营养,平衡肠道微生态^[27]。在属水平上,与模型组相比,大蒜多糖治疗之后乳杆菌属丰度增加。乳杆菌属是常见的益生菌,可抑制病原菌与肠黏膜上皮细胞黏附,阻碍其在肠道内定植、繁殖^[28],能够治疗或辅助治疗新生儿腹泻^[29]。蒸大蒜多糖可能增加了肠道中有益菌如拟杆菌门相对丰度,降低了有害菌变形菌门、志贺氏菌属等的相对丰度并调节腹泻大鼠肠道菌群使之趋于正常,达到治疗菌群失调性腹泻的作用。

综上所述,蒸大蒜多糖对幼年大鼠菌群失调性腹泻均具有比较好的治疗效果,且蒸大蒜多糖是通过调节菌群丰度从而对幼年大鼠菌群失调性腹泻起到治疗作用。研究结果可为蒸大蒜多糖治疗小儿菌群失调性腹泻的临床应用提供实验依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 梁忠培,杨力,邓昌枢,等. 参苓白术散加减辅助推拿辨证治疗小儿急性轮状病毒性感染性腹泻的临床疗效研究[J]. 中华医院感染学杂志,2017,27(22):5262-5265.

[2] TROEGER C, BLACKER B F, KHALIL I A, et al. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoea in 195 countries: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [J]. Lancet Infect Dis, 2018, 18(11): 1211-1228.

[3] 侯宪勇. 当前小儿腹泻的研究进展及发展前景[J]. 中国社区医师,2018,34(7):5,7.

[4] KOTLOFF K L, NASRIN D, BLACKWELDER W C, et al. The incidence, aetiology, and adverse clinical consequences of less severe diarrhoeal episodes among infants and children residing in low-income and

middle-income countries: A 12-month case-control study as a follow-on to the Global Enteric Multicenter Study (GEMS) [J]. Lancet Glob Health, 2019, 7(5): e568-e584.

[5] 陈军,黄华杰. 血清降钙素原水平对抗生素致肠道菌群失调性腹泻的影响研究[J]. 名医,2019(1):59.

[6] 王威,王静. 基于网络药理学对七味白术散治疗菌群失调性腹泻的作用机制研究[J]. 世界中西医结合杂志,2021,16(7):1251-1255,1264.

[7] 黄永文. 小儿抗生素滥用危害大[J]. 家庭医学, 2021(6):13.

[8] RUIZ-ACEITUNO L, LAZARO A. Physicochemical and textural properties of a spanish traditional garlic (*Allium sativum*) variety: characterizing distinctive properties of "FINO DE CHINCHON" garlic [J]. Euro Food Res Technol, 2021, 247(10): 2399-2408.

[9] ALIDE T, WANGILA P, KIPROP A. Effect of cooking temperature and time on total phenolic content, total flavonoid content and total *in vitro* antioxidant activity of garlic [J]. BMC Res Notes, 2020, 13(1): 564.

[10] 韩冰. 大蒜的药用[J]. 现代养生:上半月版,2020,20(6):32-33.

[11] 李佳阳,刘峰,林玉梅,等. 蒸制对中药化学成分的影响研究进展[J]. 中华中医药学刊,2022,40(2): 128-131.

[12] 李新霞,史荣梅,刘睿婷. 大蒜主要化学成分及检测标准 [J]. 新疆医科大学学报,2020,43(6):697-700.

[13] JANSKÁ P, KNEJZLÍK Z, PERUMAL A S, et al. Effect of physicochemical parameters on the stability and activity of garlic alliinase and its use for in-situ allicin synthesis [J]. PLoS One, 2021, 16(3): e0248878.

[14] SARVIZADEH M, HASANPOUR O, NADERI GHALE-NOIE Z, et al. Allicin and digestive system

- cancers: From chemical structure to its therapeutic opportunities[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 650256.
- [15] 董玉玮, 苗敬芝, 李勇. 双酶法提取大蒜多糖工艺优化及其体外抗氧化活性研究[J]. *中国调味品*, 2020, 45(10): 30-35, 48.
- [16] 薛沾枚, 张备, 张艳, 等. 中药多糖对鸡生产性能影响的研究进展[J]. *现代畜牧科技*, 2021(11): 30-32, 34.
- [17] WU J, LIU Y, DOU Z, et al. Black garlic melanoidins prevent obesity, reduce serum LPS levels and modulate the gut microbiota composition in high-fat diet-induced obese C57BL/6J mice [J]. *Food Funct*, 2020, 11(11): 9585-9598.
- [18] LI X, WU Y, XU Z, et al. Effects of hetiao Jianpi decoction on intestinal injury and repair in rats with antibiotic-associated diarrhea [J]. *Med Sci Monit*, 2020, 26: e921745.
- [19] 周欣, 付志飞, 谢燕, 等. 中药多糖对肠道菌群作用的研究进展[J]. *中成药*, 2019, 41(3): 623-627.
- [20] 董宇, 林翰清, 缪松, 等. 酶法提取多糖的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(3): 351-358.
- [21] 张浩然, 魏晶晶, 王慧春. 超声法提取猴头菇多粕工艺优化研究[J]. *中国调味品*, 2021, 46(3): 154-156, 165.
- [22] 崔翔, 邢宇锋, 何堂清, 等. 双歧杆菌乳杆菌三联活菌干预 NASH 模型大鼠代谢性炎症的实验研究[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2021, 31(7): 625-628.
- [23] 李晨. 大蒜素对炎症性肠病的治疗作用及其对 MAPK 信号通路的影响 [D]. 广州: 南方医科大学, 2012.
- [24] 杨璐嘉, 来智慧, 官松美, 等. 几种临床常用抗生素诱导小鼠腹泻的研究[J]. *中国抗生素杂志*, 2020, 45(8): 825-832, 封3.
- [25] 石坤. 基于肠道菌群的焦苍术抗腹泻药效及其作用机制研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2020.
- [26] 张程亮, 王砚, 向道春, 等. 穿心莲内酯对小鼠腹泻模型的治疗作用研究[J]. *中国药师*, 2011, 14(8): 1102-1105.
- [27] 金洁, 张飞燕, 张庆宇, 等. 应用 Illumina MiSeq 测序技术对腹泻北平顶猴肠道菌群的分析[J]. *野生动物学报*, 2021, 42(4): 1015-1021.
- [28] 涂腾, 丁俊仁, 李思聪, 等. 参金止痢口服液对腹泻哺乳仔猪肠道微生物菌群影响的差异性分析[J]. *中国兽药杂志*, 2021, 55(6): 35-44.
- [29] 赖本聪. 复方嗜酸乳杆菌片联合蒙脱石散治疗小儿腹泻临床疗效观察[J]. *中国处方药*, 2020, 18(1): 73-74.

[责任编辑 顾雪竹]