

围手术期不同处理因素对 SD 大鼠肠道菌群的影响

王 亮¹ 沈 丽² 王东升¹ 韩立慧³ 王茂龙¹ 刘汉成¹ 周岩冰^{1△}

(1 青岛大学医学院附属医院普外科 山东 青岛 266003 ; 2 青岛大学医学院附属医院眼科 山东 青岛 266003 ;
3 青岛大学医学院附属医院内分泌科 山东 青岛 266003)

摘要 目的 探讨抗生素、肠道准备以及饮食对 SD 大鼠肠道菌群的影响。方法 :将 36 只 SD 大鼠随机分为 6 组,分别采用不同的处理措施,分为对照组,抗生素组,肠道准备组,禁饮食组,术后早期禁饮食组和术后早期进食组,共处理 4 天,第 5 天脱颈椎处死,无菌条件下取回盲部粪便进行细菌培养并计数。结果 :抗生素组、肠道准备组以及禁饮食组与对照组比较,抗生素组与肠道准备组、禁饮食组比较,大肠杆菌、类杆菌数量均明显增加,双歧杆菌、肠球菌数量均显著减少,双歧杆菌 / 大肠杆菌比值显著降低,其差异有统计学意义 ($P<0.05$) 术后早期进食组与术后禁饮食组相比,大肠杆菌、类杆菌数量有所减少,双歧杆菌、肠球菌数量有所增加,双歧杆菌 / 大肠杆菌比值有所提高,且其差异有统计学意义 ($P<0.05$)。结论 :抗生素、肠道准备以及禁饮食均可引起 SD 大鼠肠道菌群失调,其中抗生素对肠道菌群的影响最大,并且术后早期进食对肠道菌群失调有改善作用。

关键词 肠道菌群 抗生素 肠道准备 禁饮食

中图分类号 Q95-3 R656.1 **文献标识码** A **文章编号** :1673-6273 (2011) 10-1924-03

Effects of Different Perioperative Managements on the Intestinal Flora in Rats

WANG Liang¹, SHEN Li², WANG Dong-sheng¹, HAN Li-hui³, WANG Mao-long¹, LIU Han-cheng¹, ZHOU Yan-bing^{1△}

(1 Department of general surgery, 2 Department of ophthalmology, 3 Department of endocrinology,

The Affiliated Hospital of Medical College of QingDao University, Shandong Province, Qingdao, 266003

ABSTRACT Objective: To investigate the influence of antibiotics, bowel preparation, and abrosia on intestinal flora of SD rats. **Methods:** 36 SD rats were randomly divided into 6 groups: control group, antibiotics group, bowel preparation group, abrosia group, bowel preparation-antibiotics-operation-abrosia after the operation(called postoperative abrosia group) and bowel preparation-antibiotics-operation-eating after the operation (called postoperative food processing group). Next, all of the rats had been adopted different disposal methods respectively for 4 days. At the fifth day, all SD rats were put to death and the intestinal stool was adopted and cultured. The bacterium strains count was measured with the method of plate counting live bacterium. **Results :** Compared with control group, in the groups processed with antibiotics, bowel preparation, and abrosia, colibacillus and bacteroides were significantly increased, while bifidobacterium, enterococcus and bifidobacterium/colibacillus ratio were significantly decreased ($P<0.05$). Compared with bowel preparation group and abrosia group, in the antibiotics group, we found the same situation. While compared with the postoperative abrosia group, the number of colibacillus and bacteroides were decreased, and the number of bifidobacterium, enterococcus and bifidobacterium/colibacillus ratio were increased in the early postoperative eating group, and the difference was statistically significant. **Conclusions :** All of the various factors (antibiotics, bowel preparation, and abrosia) could have influence on the intestinal flora, and the impact of antibiotics was the biggest. Compared with the postoperative abrosia group, the postoperative food processing group has less influence on the intestinal flora, which could show that eating after the operation may improve flora disequilibrium.

Key words: Intestinal flora; Antibiotics; Bowel preparation; Abrosia

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3 R656.1 **Document code:** A

Article ID:1673-6273 (2011) 10-1924-03

前言

动物肠道内存在大量的细菌, 这些细菌被称为肠道菌群, 正常情况下, 肠道菌群与宿主之间相互作用, 维持微生态平衡。一旦某些外源性因素引起细菌种类和数量的变化, 打乱微生态

平衡, 大量内毒素侵入血循环, 会导致肠源性内毒素血症以及细菌移位, 使机体出现相应的表现, 以腹泻最为常见。临床观察及研究发现, 围手术期的各种处理措施 (饮食、灌肠法、口服药物以及应用抗生素) 均会干扰肠道正常菌群, 影响肠道微生态环境^[1-6], 然而哪种处理因素对肠道菌群影响最大, 以及术后早期进食是否有利于稳定肠道微环境, 文献报道较少。为此, 我们设计实验旨在探讨围手术期不同处理因素 (应用抗生素、禁饮食、灌肠) 以及术后早期进食对 SD 大鼠肠道菌群的影响。

1 材料与方法

作者简介 王亮 (1983-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向: 胃肠肿瘤, 临床营养, 肠道菌群及微生态, 联系电话 :13793248572,
E-mail :laren1983@sina.com

△通讯作者 周岩冰, E-mail :zhouyanbing999@yahoo.com.cn

(收稿日期 2011-02-05 接受日期 2011-02-28)

1.1 材料

SD 大鼠 (青岛市实验动物和动物试验中心提供),4~5 周龄,重 40.0±5.0 g,在恒温 (24~27℃)、恒湿 (45%~55%) 的无特殊病原体环境下饲养。所有手术组大鼠均在无菌条件下进行外科手术操作。33%硫酸镁溶液、5%糖盐水购自青岛华仁药业股份有限公司;青霉素购自华北制药股份有限公司;安素购自雅培制药有限公司;培养基平板购自江苏海门百得福实验器材公司。

1.2 实验分组

选取 SD 大鼠 36 只,雌雄各半,购买后自适应一周,随机分为 6 组;(1) 对照组:实验第 1-4 天自由饮食;(2) 抗生素组:第 1-4 天按 80 万单位/kg 腹腔注入青霉素 G,2 次/天,自由饮食;(3) 肠道准备组:第 4 天给与 33%硫酸镁溶液 10 mL/kg 灌胃,第 1-4 天自由饮食;(4) 禁饮食组:第 1-4 天禁饮食,给与 5%糖盐水 50 mL/kg 皮下注射;(5) 肠道准备-抗生素-手术处理-术后早期进食组 (简称“术后早期进食组”):第 1 天给与 33%硫酸镁溶液 10 mL/kg 灌胃,自由饮食,第 2 天手术,应用 2%的戊巴比妥钠 5 mL/kg 麻醉后,在回盲部近端 5 cm 处切除约 1 cm 肠段,5%糖盐水 50 mL/kg 皮下注射,第 1-4 天按 80 万单位/kg 腹腔注入青霉素 G,2 次/天,及安素 10 mL/kg 灌胃,自由饮食。(6) 肠道准备-抗生素-手术处理-术后禁饮食组 (简称“术后禁饮食组”):第 1 天给与 33%硫酸镁溶液 10 mL/kg 灌胃,第 2 天手术,应用 2%的戊巴比妥钠 5 mL/kg 麻醉后,在回盲部近端 5 cm 处切除约 1 cm 肠段,第 1-4 天按 80 万单位/kg 腹腔注入青霉素 G,2 次/天,及第 1-4 天禁饮食,给与 5%糖盐水 50 mL/kg 皮下注射。所有大鼠均在实验第 5 天,脱颈

椎处死,在密闭的容器内每组小鼠均取回盲部粪便 1 mL,用于细菌培养。

1.3 细菌培养方法

按倍比稀释法到 10⁻²,充分混匀,取 50ul 分别涂在大肠杆菌、双歧杆菌、类杆菌和肠球菌选择性培养基平板上,37℃ 培养 48 小时,分别对各菌株进行鉴定并按平板活菌计数法计数。结果以每克粪便湿重中菌落形成单位的对数值表示 (lg, $\bar{x} \pm s$)。

1.4 统计学方法

应用 spss12.0 进行统计学分析,所有数据用 lg 转换后,用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,对各组数据进行单因素方差分析,取 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 有统计学意义。

2 结果

1、术前手术期处理因素组 (第 2,3,4 组) 与对照组比较,大肠杆菌、类杆菌数量均明显增加,双歧杆菌、肠球菌数量均显著减少,双歧杆菌/大肠杆菌比值显著降低,其差异有统计学意义 ($P<0.05$)。抗生素组与肠道准备组、禁饮食组比较,前者大肠杆菌、类杆菌数量明显增加,双歧杆菌、肠球菌数量明显减少,双歧杆菌/大肠杆菌比值减小,其差异有统计学意义 ($P<0.05$)。肠道准备组与禁饮食组比较各菌群差异均无统计学意义 ($P>0.05$) (见表 1)。

2、术后早期进食组 (第 5 组) 与术后禁饮食组 (第 6 组) 相比,大肠杆菌、类杆菌数量有所减少,双歧杆菌、肠球菌数量有所增加,且其差异有统计学意义 ($P<0.05$) (见表 2)。

表 1 各处理因素对 SD 大鼠肠道菌群数量的影响

Table 1 Effects of various management factors on the intestinal flora amount in SD rats

Group	Control group	Antibiotic group	Bowel preparation group	Aabrosia group
Colibacillus	8.94± 0.12	10.01± 0.22 ^{▲*}	9.60± 0.31*	9.60± 0.31*
Bacteroides	9.23± 0.16	10.26± 0.15 ^{▲*}	9.66± 0.24*	9.74± 0.35*
Bifidobacterium	8.31± 0.16	7.03± 0.17 ^{▲*}	7.31± 0.13*	7.36± 0.16*
Enterococcus	10.89± 0.10	8.41± 0.22 ^{▲*}	9.80± 0.17*	9.82± 0.22*
Bifidobacterium/colibacillus	0.93± 0.03	0.70± 0.03 ^{▲*}	0.76± 0.02*	0.77± 0.03*

注: *表示各组与对照组比较, $P<0.05$; [▲]表示抗生素组与肠道准备组、禁饮食组比较, $P<0.05$

Note: *compared with control group, $P<0.05$; [▲]the antibiotics group compared with bowel preparation group and abrosia group, $P<0.05$

表 2 术后早期进食组与术后禁饮食组肠道菌群数量比较

Table 2 Comparison of intestinal flora amount in SD rats between postoperative food processing group and postoperative abrosia group

Group	Postoperative food processing group	Postoperative abrosia group
Colibacillus	9.87± 0.23*	10.32± 0.24
Bifidobacterium	7.23± 0.02*	6.34± 0.51
Enterococcus	8.63± 0.21*	7.33± 0.12
Bacteroides	10.11± 0.45*	11.14± 0.31
Bifidobacterium/colibacillus	0.73± 0.02*	0.61± 0.06

注: *表示术后早期进食组与术后禁饮食组比较, $P<0.05$

Note: *the postoperative food processing group compared with the postoperative abrosia group, $P<0.05$

3 讨论

消化道内微生物种类繁多,其中肠道菌群是构成肠道内环境的重要因素。粪便的细菌包括需氧菌、厌氧菌和兼性厌氧菌等,约99%为厌氧菌,还有少量的产气杆菌、变形杆菌等^[1]。需氧菌主要包括大肠杆菌、肠球菌,厌氧菌主要包括双歧杆菌、类杆菌、乳酸杆菌等。通常用双歧杆菌/大肠杆菌比值来表示厌氧菌和需氧菌的数量比例。在这数量巨大的菌群中,有些是潜在的病原体,在某些环境下,它们是机体感染的源头^[7]。而正常的肠道菌群作为一种生物屏障,对减少细菌易位可能有积极作用^[8]。正常情况下,肠道中的各种细菌种类和数量保持一定的比例,共同维持肠道微环境的稳定。但当体内环境改变或在某些外在因素作用下,尤其是在手术治疗的患者中,会引起体内各菌群数量的变化,发生菌群失调,从而引起一系列病理生理的改变,影响术后患者的恢复。国外学者研究报道,菌群寄居部位改变、宿主免疫力下降或菌群失调时,条件致病菌就会导致相关疾病及并发症的发生^[9]。因此,我们的实验旨在观察围手术期处理因素对肠道菌群的影响及何种处理因素的影响更大,并观察与术后禁饮食相比,早期进食是否对肠道菌群的影响更小。

我们的研究发现,围手术期各处理因素组(抗生素组,肠道准备组,禁饮食组)与对照组比较,大肠杆菌、类杆菌数量明显增加,双歧杆菌、肠球菌数量明显减少,双歧杆菌/大肠杆菌比值倒置,且其差异有统计学意义($P < 0.05$)。这表明抗生素、肠道准备和禁饮食均可引起肠道菌群的变化。分析其原因可能包括:抗生素非选择性杀灭厌氧菌和需氧菌,引起菌群数量的改变;肠道准备等操作引起菌群易位;长期禁饮食引起肠内屏障功能部分受损而加重菌群易位;术后继续应用抗生素会进一步加重菌群紊乱^[10,11]。而抗生素组与肠道准备组、禁饮食组比较,前者大肠杆菌、类杆菌数量明显增加,双歧杆菌、肠球菌数量明显减少,双歧杆菌/大肠杆菌比值减小,其差异有统计学意义($P < 0.05$);肠道准备组与禁饮食组比较各菌群差异均无统计学意义。这表明在三种处理因素中,以抗生素对肠道菌群的影响为最大,余两种处理因素对菌群的影响相当。同时,临床工作中抗生素的不合理使用、滥用,产生越来越多的耐药菌和肠道菌群失调,并导致抗生素相关性腹泻和肠炎的发生也屡见不鲜。Sullivan等^[12]指出临床最常见的肠道菌群失调致腹泻的原因之一为应用抗生素后的真菌感染。且肠道菌群易位与术后较高的脓毒症发生率有关^[13]。Wren等^[14]认为,术前抗生素会导致艰难梭菌的感染率增加,可能是该类抗生素影响了肠道正常菌群环境。我们的实验以及临床经验均提醒我们在临床实际工作中应规范抗生素的应用,严格遵循抗生素使用原则,避免滥用抗生素引起的菌群失调和抗生素相关性肠炎等并发症的发生。

传统胃肠道手术围手术期都需要进行严格的肠道准备、禁饮食以及应用抗生素,主要是认为通过以上严格的处理,能够减少围手术期并发症的发生,如吻合口瘘、切口感染等。然而近些年一些循证医学证据表明,严格的肠道准备、禁饮食以及长期应用抗生素不但不能减少并发症发生,反而延缓病人的康复^[15,16]。肠道菌群从一个方面反映了肠道的功能状态,我们的研究就从这一方面证实了抗生素、肠道准备、禁饮食对肠道功能的影响,并且进一步发现这三种常规围手术期处理因素中,以抗生素的影响最为显著。鉴于目前临床工作中抗生素的使用中

存在的问题,我们更应该严格掌握抗生素的使用指征及原则。

此外,术后早期进食与术后禁饮食比较,前者大肠杆菌、类杆菌数量有所减少,双歧杆菌、肠球菌数量有所增加,双歧杆菌/大肠杆菌比值有所提高,且其差异有显著意义,这表明术后早期进食在一定程度上能够减轻抗生素、肠道准备等处理因素所引起的菌群失调,有助于菌群失调恢复正常。这与目前的加速康复外科理念所提倡的鼓励病人术后早期进食这一观点也是相符的^[17]。

通过我们的实验发现,在临床工作中,针对围手术期的患者,应严格规范抗生素的应用,尽量避免或者减少肠道准备及禁饮食,增加患者围手术期的耐受性;同时,应鼓励患者术后早期进食。另外,本实验还存在一些不足,主要是我们采用细菌培养方法细菌计数,此方法需要对待分离的目标微生物有明确的认知,且费时费力,定量的精度非常有限,下一步仍需应用分子生物学方法进一步验证。

参考文献(References)

- [1] 包维民,王昆华,唐映梅,等.结直肠癌患者手术前后肠道菌群与正常人群的比较.结直肠肛门外科,2009,15(4):224-226
Bao Wei-min, Wang Kun-hua, Tang Ying-mei, et al. Study on intestinal flora in patients with colorectal cancer [J]. Journal of Colorectal & Anal Surgery, 2009, 15(4): 224-226 (In Chinese)
- [2] 代群威,董发勤,邓建军.正常菌群与菌群失调.生物磁学,2005,5(1):32-34
Dai Qun-wei, Dong Fa-qin, Deng Jian-jun. Normal flora and dysbacteriosis [J]. Biomagnetism, 2005, 5(1): 32-34 (In Chinese)
- [3] 周殿元,潘令嘉.肠道菌群失调及治疗进展.胃肠病学,2001,6(4):附2-附4
Zhou Dian-yuan, Pan Ling-jia. Alteration of intestinal flora and its advances in treatment [J]. Chin J Gastroenterol, 2001, 6(4): add 2-add 4 (In Chinese)
- [4] 余江,王仙园.肠道准备国内外研究现状及进展.中国实用护理杂志,2004,20(5):73-74
Yu Jiang, Wang Xian-yuan. The research status and advances of intestinal tract preparation both at home and abroad [J]. Chinese Journal of Practical Nursing, 2004, 20(5): 73-74 (In Chinese)
- [5] Fausto DL. Antimicrobial prophylaxis in colorectal surgery: focus on ertapenem [J]. Therapeutics and Clinical Risk Management, 2009, 5: 829-839
- [6] Rustam S, Ilya D, Aysegul TA, et al. Oral lead exposure induces dysbacteriosis in rats [J]. Journal of Occupational Health, 2009, 51: 64-73
- [7] Bengmark S. Ecological control of the gastrointestinal tract: the role of probiotic flore [J]. Gut, 1998, 42: 227
- [8] Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease [J]. Lancet, 2003, 361(9356): 512-519
- [9] Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, et al. Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial [J]. Gastroenterology, 2000, 119: 305-309
- [10] 王坚强,汤瑾,蒋燕群.益生菌对大鼠肠道菌群紊乱和细菌易位的影响.上海交通大学学报(医学版),2006,26(2):163-165
Wang Jian-qiang, Tang Jin, Jiang Yan-qun. Effects of probiotics on intestinal flora disturbance and bacteria translocation of rats [J]. Journal of Shanghai Jiaotong University (Medical Science), 2006, 26(2): 163-165 (In Chinese)

(下转第1920页)

果满意率,且对患者预后无临床影响。

参考文献(References)

- [1] 赵郁,邵智慧,赵建红,等.早期乳腺癌保乳手术治疗 68 例临床分析[J].中国妇幼保健,2009,24(33):4660-4662
Zhao-yu,Tai Zhi-hui,Zhao Jian-hong,et al.Clinical analysis on breast conserving surgery for early stage breast cancer in 68 cases[J]. Maternal and Child Health Care of China,2009,24(33):4660-4662
- [2] Ismail J,Proschan MA.Randomised trials of breast-conserving therapy versus mastectomy for primary breast cancer:a pooled analysis of updated results[J].Am Clin Oncol, 2005,28(3):289-294
- [3] Veronesi U,Cascinelli N,Mariani L,et al.Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer [J].N Engl J Med,2002,347(16): 1227-1232
- [4] 范惠文,邱铝,史讯.早期乳腺癌保乳手术 42 例分析[J].河北医学, 2007,13(9):1098-1001
Fan Hui-wen, Qiu-lv, Shi-xun.Breast Conserving Surgery for the Treatment of Early Breast Cancer:Analysis of 42 Cases[J]. Hebei Medicine, 2007,13(9):1098-1001
- [5] 狄根红,元发芝,吴昊,等.乳腺癌改良根治术后一期乳房再造[J].复旦学报(医学版),2004,31(4):434
Di Gen-hong,Qi Fa-zhi,Wu-hao,et al. I stage breast reconstruction after the modified radical surgery[J].Fudan University Journal of Medical Sciences,2004,31(4):434
- [6] 邓智平,宋张骏,杨晓民,等.乳腺癌保乳手术在临床应用的调查分析[J].现代肿瘤医学,2009,17(9):1700-1702
Deng Zhi-ping,Song Zhang-jun,Yang Xiao-min,et al.Investigation of clinical application on breast conserving surgery[J].Journal of Modern Oncology,2009,17(9):1700-1702

- [7] 李金明,姜井颂,刘琛.早期乳腺癌保乳手术 196 例回顾性分析[J].中国现代普通外科进展,2010,13(8):621-623
Li Jin-ming,Jiang Jin-song,Liu chen.Breast Conservation Surgery for early breast Cancer:an analysis of 196 Cases [J]. Chinese Journal of Current Advances in General Surgery,2010,13(8):621-623
- [8] Fisher B,Anderson S.Conservative surgery for the management of invasive and noninvasive carcinoma of the breast:NSABP trials[J]. World J Surgery,1994,18(1):63-69
- [9] Noguchi M,Kinne DW, Migyazeki I.Breast-Conservation treatment controversies and consensus[J].Surg Oncol,1996,62(11):228
- [10] Fisher B,Anderson S, Bryant J, et al.Twenty-year follow up of a randomized trial comparing total mastectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer [J].N Engl J Med, 2002,347(16):1233-1241
- [11] 张保宁,余子豪.乳腺癌保乳手术的几个关键问题[J].中华肿瘤杂志,2001,23(6):523-524
Zhang Bao-ning,Yu Zi-hao.Several important problems about the breast-conserving surgery [J].Chinese Journal of Oncology, 2001,23 (6):523-524
- [12] 张会英.早期乳腺癌保乳手术治疗 60 例临床分析[J].中国实用医药,2009,4(7):60-61
Zhang Hui-ying.The clinical analysis of breast-conserving surgery in 60 early breast cancer patients [J].China Practical Medicine,2009,4 (7):60-61
- [13] 黄桂林,朱丽萍,李志刚,等.乳腺癌保乳治疗的临床研究[J].中华普通外科杂志,2007,22(10):757-759
Huang Gui-lin,Zhu Li-ping,Li Zhi-gang,et al.The clinical research: breast-conserving therapy for the breast cancer [J].Chinese Journal of General Surgery,2007,22(10):757-759

(上接第 1926 页)

- [11] 任建安,王革非,王新波,等.肠内营养再灌食综合征的诊治.中国实用外科杂志,2003,23(2): 86-89
Ren Jian-an, Wang Ge-fei, Wang Xin-bo, et al. Diagnosis and treatment of enteral feeding restarting syndrome [J]. Chinese Journal of Practical Surgery, 2003, 23(2): 86-89(In Chinese)
- [12] Sullivan A, Edlund C, Nord CE. Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora [J]. Lancet Infect Dis, 2001, 1 (2): 101-114
- [13] Sedman PC, Macfie J, Sagar P, et al. The prevalence of gut translocation in humans[J]. Gastroenterology, 1994, 107 (4): 643-649
- [14] Wren SM, Ahmed N, Jumal A, et al. Preoperative oral antibiotics in colorectal surgery increase the rate of Clostridium difficile colitis[J]. Arch Surg, 2005, 140 (8): 752-756
- [15] 陈侃,季巧金,王时南.大肠癌术前肠道准备临床研究.中国实用外

科杂志,2007,27(11):893-894

Chen Kan, Ji Qiao-jin, Wang Shi-nan.Clinical meaning of preoperative intestinal preparation in colorectal cancer [J]. Chinese Journal of Practical Surgery, 2007, 27(11): 893-894(In Chinese)

- [16] 喻光懋,倪一鸣,崔健.围手术期序贯处理对食管癌及贲门癌患者的术后影响.实用癌症杂志, 2008, 23(5): 496-499
Yu Guang-mao, Ni Yi-ming, Cui Jian. Effects of Perioperative Sequential Treatment on Recovery of Patients with Esophageal or Cardiac Carcinoma[J]. The Practical Journal of Cancer, 2008, 23(5): 496-499 (In Chinese)
- [17] Wang DS, Zhou YB, Kong Y,et al. Fast-track surgery improves postoperative recovery in patients with gastric cancer: a randomized comparison with conventional postoperative care [J]. J Gastrointest Surg, 2010, 14: 620-627