

© Коллектив авторов, 2009
УДК 616.342-002.44-007.251-06:576.8

С.И.Перегудов, Г.И.Синенченко, А.А.Курыгин, В.И.Кочеровец

МИКРОФЛОРА ТОНКОЙ КИШКИ У БОЛЬНЫХ С ПЕРФОРАТИВНЫМИ ДУОДЕНАЛЬНЫМИ ЯЗВАМИ

2-я кафедра (хирургии усовершенствования врачей) (нач. — проф. Г.И.Синенченко) Военно-медицинской академии им. С.М.Кирова, Санкт-Петербург

Ключевые слова: тонкая кишка, микрофлора, синдром избыточной колонизации тонкой кишки, перитонит, перфоративные язвы.

Введение. Актуальность проблемы исследования обусловлена недостаточной изученностью изменений, происходящих в составе бактериальной флоры тонкой кишки при тяжёлых формах перитонита, особенно у больных с прободными язвами двенадцатиперстной кишки. Данные литературы свидетельствуют о том, что токсическая и терминальная фазы перитонита сопровождаются развитием пареза органов желудочно-кишечного тракта, приводящего к возникновению синдрома избыточной колонизации тонкой кишки [1, 2], который означает повышенную концентрацию в ней бактериальных популяций, приближающихся по видовому и количественному составу к микрофлоре ободочной кишки и фекалий. В редких зарубежных работах описан микробиоценоз кишечника в норме [4–7], однако трудоёмкость и стоимость подобного рода исследований позволили полноценно изучить его изменения лишь у нескольких астронавтов NASA. Именно поэтому мы сочли возможным ограничиться приведённым числом наблюдений (в среднем на одного пациента израсходовано 286 чашек Петри с питательными средами).

Цель настоящего исследования — сравнение видового и количественного состава микробиоценоза тощей и подвздошной кишки у больных с токсической фазой разлитого перитонита язвенной и неязвенной этиологии.

Материал и методы. В основу работы положены методические приемы и принципы, описанные в фундаментальных руководствах по клинической бактериологии [3, 8]. Забор материала производили сразу после лапаротомии по поводу токсической фазы разлитого перитонита по методике, описанной Н.Thaderalli и соавт. [7]. Аспирацию 1,5 мл химуса проводили в 50 см от связки Трейтца и в 50 см от илеоцекального угла через иглу одноразовым шприцем.

Осложнений, связанных с пункцией тонкой кишки, не было. Полученные аспираты немедленно помещали в герметичные пластиковые контейнеры и погружали в термос с жидким азотом [2]. Последующую обработку диагностического материала осуществляли в анаэробном перчаточном боксе «Forma Scientific 1029», заполненном бескислородной газовой смесью (80% азота, 10% углекислоты и 10% водорода; примесь кислорода менее 0,01%).

Для определения общего количества микроорганизмов и характера доминирующей микрофлоры применяли 5% кровяной триптозный агар «Ferak», а для общего количества облигатных анаэробов — 5% кровяной триптозный агар с селективной добавкой N-S Anaerobe Supplement («Oxoid»). Для изучения видового и количественного состава тонкокишечной микрофлоры применяли селективные среды на высокопитательной основе. Все среды готовили ex tempore. Готовые чашки с анаэробными средами немедленно вносили в перчаточный бокс.

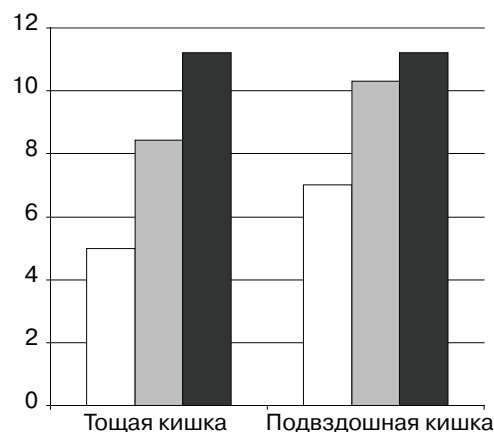
После доставки в лабораторию пробы извлекали из жидкого азота и помещали в анаэробный бокс. Разведения проб аспиратов тощей и подвздошной кишки делали в пробирках с питательной средой для контроля стерильности (НПО «Питательные среды», г. Махачкала). Засеянные чашки помещали в термостат и инкубировали при 37 °С. Учет результатов посевов на аэробных и анаэробных питательных средах проводили в соответствии с руководством [8]. При появлении на чашке от 30 до 300 отдельных колоний микробный рост квалифицировали как «значимый». Если выросло более 300 колоний, это расценивали как «сплошной рост», если менее 30 — как «нет роста». Все типы колоний, выросшие в анаэробных условиях, проверяли на аэроотолерантность путем посева секторами на 5% аэробный кровяной триптозный агар с последующим помещением в термостат при 37 °С. Если через сутки наблюдался рост, то микроорганизмы, образовавшие колонии, расценивали как факультативно-анаэробные, при отсутствии роста микробы признавали строгими анаэробами. Параллельно для выявления бактерий с характерной морфологией проводили микроскопию мазков колоний, окрашенных по Грам в модификации Korpeloff. Более подробную идентификацию микроорганизмов не проводили, так как их видовую принадлежность определяли согласно вышеперечисленным руководствам.

Наши представления о составе нормального микробиоценоза желудочно-кишечного тракта основаны на данных из источников литературы, в которых обобщен опыт нескольких

поколений исследователей [4, 5]. Видовой и количественный состав интестинальной микрофлоры изучен нами у 8 больных с токсической фазой разлитого перитонита, в том числе у 2 пациентов с перфоративной язвой двенадцатиперстной кишки, у 2 — с крупноочаговым жировым панкреонекрозом, у 2 — с гангренозно-перфоративным аппендицитом и у 2 — с перфорацией опухоли сигмовидной кишки.

Результаты и обсуждение. Исследование видового и количественного состава интестинальной микрофлоры показало, что у всех пациентов с токсической фазой перитонита развивается синдром избыточной бактериальной колонизации тонкой кишки. Ни одна проба содержимого тонкой кишки не была стерильной. В отличие от перитонитов неязвенной этиологии, при которых из каждой пробы химуса тощей кишки культивировали в среднем 4–5 бактериальных видов, а из подвздошной — 7–8, при перфорации дуоденальной язвы из содержимого тощей кишки удалось выделить лишь 2–3 различных вида микроорганизмов, а из подвздошной — 5–6. Наиболее часто аэробы были представлены *E. coli*, *Enterobacter* spp. и *Streptococcus* spp., а анаэробы — *Lactobacterium* spp., *Bifidobacterium* spp. и *Clostridium* spp. Общая концентрация бактерий во всех отделах тонкой кишки значительно превышала физиологические границы. Данные о концентрации микроорганизмов в содержимом тонкой кишки больных с токсической фазой перитонита представлены на рис. 1.

Как видно из представленных на рис. 1 данных, среднее число микроорганизмов в тощей кишке больных с перитонитом неязвенного происхождения достигало $2,2 \times 10^{11}$, в дистальном отделе подвздошной — 2×10^{12} КОЕ/мл, что соответству-



Здесь и на рис. 2–4: □ Физиологические значения; □ Перитониты язвенной этиологии; ■ Перитониты неязвенной этиологии

Рис. 1. Общая концентрация микроорганизмов ($\log_{10}$ КОЕ/мл) в содержимом тонкой кишки у больных с токсической фазой разлитого перитонита.

ет среднему числу бактерий, содержащихся в 1 г фекалий (10^{11} – 10^{12} КОЕ/мл). При перитоните, вызванном прободением язвы двенадцатиперстной кишки, отмечались гораздо меньшие сдвиги в составе тонкокишечного микробиоценоза. Так, общая концентрация бактерий в начальном отделе тощей кишки не превышала $4,3 \times 10^8$, а в подвздошной — $3,2 \times 10^{10}$ КОЕ/мл, что свидетельствует о значительно менее выраженных расстройствах функций тонкой кишки у больных с перфоративными язвами.

Данные о видовом составе аэробной микрофлоры содержимого различных отделов тонкой

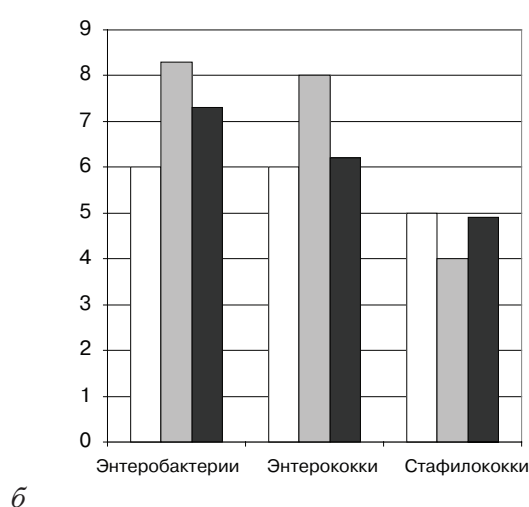
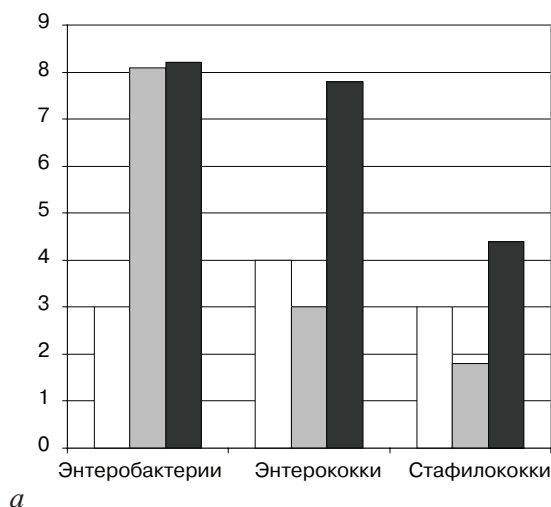


Рис. 2. Видовой состав аэробной микрофлоры ($\log_{10}$ КОЕ/мл) содержимого тонкой кишки у больных с токсической фазой перитонита.
а — тощая кишка; б — подвздошная кишка.

кишки у больных с тяжелыми формами перитонита представлены на рис. 2.

Анализ результатов исследования позволил выявить значительные изменения видового и количественного состава аэробного компонента энтерального микробиоценоза, независимо от причины, вызвавшей развитие токсической фазы перитонита. Установлено, что возрастание количества аэробных бактерий относится как к грамположительным, так и к грамотрицательным видам с той лишь разницей, что число последних превышало число грамположительных видов на всем протяжении тонкой кишки. Особенно это касается перитонитов язвенного происхождения. Так, в тощей кишке больных с перфоративными дуоденальными язвами концентрация грамотрицательных факультативно-анаэробных микроорганизмов, главным образом *E. coli* и видов *Enterobacter*, была на 5–6 порядков больше концентрации грамположительных бактериальных видов, в то время как при неязвенных перитонитах эта разница не превышала 1–4 порядка. Неслучайно результаты наших бактериологических исследований перитонеального экссудата показали, что свыше 60% высеваемых из перитонеального экссудата микроорганизмов представляют семейство грамотрицательных энтеробактерий, в том числе 57,9% — группу кишечной палочки.

При токсической фазе перитонита, как правило, сглаживается физиологический градиент аэробных микроорганизмов от проксимальных отделов тонкой кишки к дистальным. Поэтому различие между бактериальной концентрацией в тощей и подвздошной кишке у 50% больных с перитонитом неязвенного генеза отсутствовало, а у остальных — не превышало двух порядков. При перфорации дуоденальной язвы это утверждение справедливо только в отношении грамотрицательных аэробных видов. Физиологический градиент грамположительных аэробных бактерий в дистальном направлении сохранялся.

Представителей семейства *Enterobacteriaceae* удалось выделить из $2/3$ проб содержимого тощей кишки. Главным образом, это были бактерии группы *E. coli* и *Enterobacter* spp. Концентрация их колебалась в пределах 6×10^3 – $1,9 \times 10^9$, составляя в среднем $1,6 \times 10^8$ КОЕ/мл для перитонитов неязвенного происхождения и $1,3 \times 10^8$ КОЕ/мл — для пациентов с перфоративными гастродуоденальными язвами. У половины больных в химусе верхнего отдела кишечника обнаружены *Klebsiella* spp. с диапазоном бактериальной концентрации 2×10^3 – $8,2 \times 10^8$ КОЕ/мл (в среднем — $1,6 \times 10^8$ КОЕ/мл при всех формах перитонита). *Proteus* spp. выделены у большинства больных со средней концентрацией, равной или больше 10^3 при перитонитах,

вызванных перфорацией дуоденальной язвы, и $2,5 \times 10^3$ КОЕ/мл — при других формах внутрибрюшной инфекции. Представители семейства *Pseudomonadaceae* выделены из содержимого тощей кишки каждого третьего пациента в количестве $8,5 \times 10^3$ – $5,6 \times 10^4$ КОЕ/мл. Обращает на себя внимание факт, что ни у одного пациента с перфоративной язвой *Pseudomonas* spp. в кишечнике не обнаружены. Мы полагаем, что именно с этим связано невысокое число послеоперационных осложнений, вызванных синегнойной инфекцией у данной категории больных.

Среди грамположительных микроорганизмов следует отметить наличие в верхнем отделе кишечника энтерококков и стафилококков. *Streptococcus* spp. обнаружены у половины больных с перитонитом. Бактериальное число их составляло 6×10^3 – $3,8 \times 10^8$ КОЕ/мл. В $1/3$ проб содержались *Staphylococcus* spp. со средней концентрацией 4×10^2 КОЕ/мл. Обращает на себя внимание невысокая бактериальная концентрация аэробных кокковых видов в верхнем отделе кишечника у пациентов с перфорацией язвы двенадцатиперстной кишки. Во всех случаях бактериальное число стрептококков и стафилококков не превышало физиологических значений, что, вероятно, обуславливает их относительно небольшую долю (9,5 и 10,5% соответственно) в микробном пейзаже перитонеального экссудата при прободных дуоденальных язвах.

В содержимом проксимального отдела тощей кишки всех без исключения больных обнаружено большое количество сапрофитной микрофлоры и грибов. Концентрация последних (в среднем $2,2 \times 10^8$ КОЕ/мл) примерно в миллион раз превышала нормальные показатели. Главным образом, это были штаммы *Candida albicans*. Неслучайно 8,5% проб перитонеального выпота у больных с перфоративными гастродуоденальными язвами содержали грибы рода *Candida*.

Все пробы содержимого дистального отдела тонкой кишки последовательно содержали энтеробактерии, энтерококки и грибы. Число *Enterobacter* spp. колебалось в пределах $2,7 \times 10^3$ – 3×10^9 , составляя в среднем $3,3 \times 10^7$ при перитонитах неязвенного генеза и $2,7 \times 10^8$ КОЕ/мл — у пациентов с прободной дуоденальной язвой. В $1/2$ случаев выделены виды *Klebsiella* с одинаковой для всех форм перитонита высокой средней бактериальной концентрацией, равной $1,6 \times 10^6$ КОЕ/мл. У $1/3$ пациентов с неязвенным перитонитом обнаружены *Proteus* spp. с диапазоном бактериальной концентрации 3×10^5 – $3,3 \times 10^6$ КОЕ/мл. Концентрация *Ps. aeruginosa*, культивированной из половины проб содержимого дистального отдела тонкой кишки, составила в среднем равной или больше 10^4 — при перфорации дуоденальной

язвы и $2,5 \times 10^4$ КОЕ/мл — при прочих формах внутрибрюшной инфекции. Фекальные стрептококки (энтерококки) обнаружены в химусе подвздошной кишки всех обследованных больных со средней бактериальной концентрацией $6,2 \times 10^8$ КОЕ/мл, что соответствует числу энтерококков в толстой кишке. Микробное число других аэробных грамположительных микроорганизмов, в частности *Staphylococcus spp.*, в этом отделе кишечника у больных с перфоративной язвой двенадцатиперстной кишки находилось в пределах физиологических для данной области границ, а при перитонитах другой этиологии — незначительно превышало нормальные показатели.

При изучении анаэробного компонента энтеральной микрофлоры у больных с токсической фазой перитонита обнаружено, что у 83% обследованных наблюдалась избыточная колонизация тонкой кишки строгими анаэробными бактериями. Последние выделены из всех проб содержимого подвздошной и из 60% — тощей кишки. В отличие от рассмотренных выше изменений аэробного компонента энтеральной микрофлоры при всех формах перитонита в верхнем отделе тонкой кишки превалировали грамположительные анаэробные виды, и лишь на уровне подвздошной кишки число грамотрицательных анаэробов начинало превышать число грамположительных. Физиологический градиент анаэробных микроорганизмов от проксимальных к дистальным отделам кишечника был сохранен у половины пациентов. Как видно из данных, представленных на рис. 3, при перитонитах неязвенной этиологии градиент в химусе составлял в среднем от $4,2 \times 10^6$ — в тощей

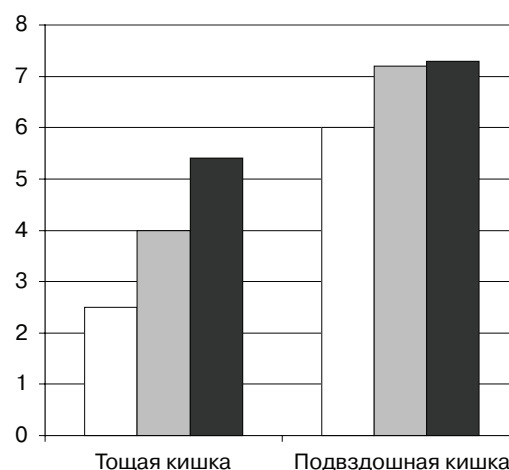
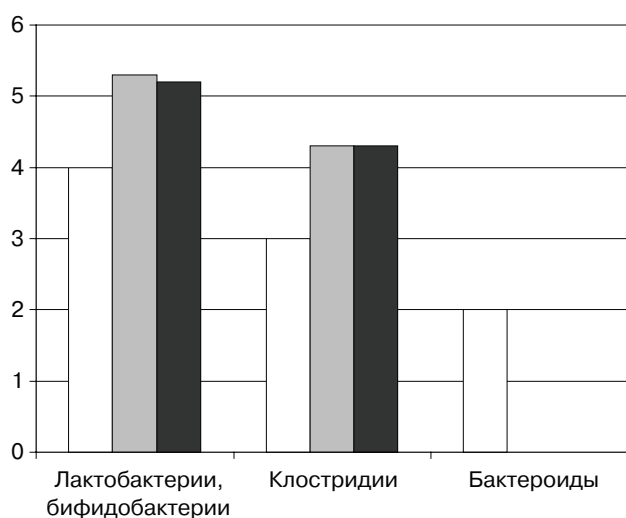


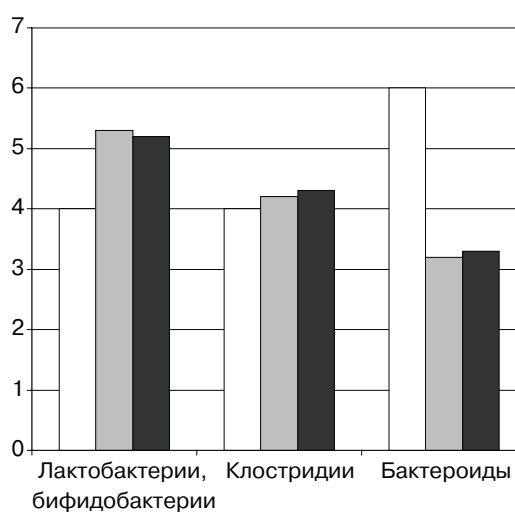
Рис. 3. Концентрация строго анаэробных бактерий ($\log_{10}$ КОЕ/мл) в содержимом тонкой кишки у больных с токсической фазой разлитого перитонита.

кишке до $1,8 \times 10^8$ КОЕ/мл — в подвздошной. Несколько большим градиент был при перфоративных язвах — от 4×10^6 до $2,4 \times 10^8$ КОЕ/мл соответственно.

Наиболее общие данные о видовом и количественном составе анаэробной микрофлоры тонкой кишки при тяжелых формах внутрибрюшной инфекции приведены на рис. 4. Обращает на себя внимание факт, что анаэробные лакто- и бифидобактерии выделены из 83% проб содержимого проксимального отдела тонкой кишки, в том числе у всех пациентов с перфоративными язвами.



а



б

Рис. 4. Видовой состав ($\log_{10}$ КОЕ/мл) анаэробной микрофлоры содержимого тонкой кишки у больных с токсической фазой перитонита.

а — тощая кишка; б — подвздошная кишка.

Концентрация их колебалась в пределах от $3,6 \times 10^3$ до 7×10^5 КОЕ/мл, в среднем составляя $1,8 \times 10^5$, что на порядок превышает верхнюю границу физиологической нормы. Почти у всех больных в этом отделе кишечника обнаружены клостридиальные микроорганизмы. Обычно весьма редкие для данной локализации *Clostridium* spp. колонизировали тощую кишку большинства больных с тяжелыми формами перитонита со средней концентрацией $4,5 \times 10^4$ КОЕ/мл. Характерно, что ни у одного пациента с перфоративной дуоденальной язвой в химусе проксимального отдела тощей кишки не удалось обнаружить бактериоидов.

Как видно из представленных на рис. 4, 6 данных, в содержимом подвздошной кишки всех больных с перитонитом обнаружена достаточно высокая концентрация *Lactobacterium* spp., *Bifidobacterium* spp. и *Clostridium* spp. Особо следует отметить возросшее число клостридиальных микроорганизмов. Их концентрация в 83% случаев превышала верхний предел физиологических показателей, составляя в среднем 10^8 КОЕ/мл при перитонитах язвенной этиологии и $2,4 \times 10^8$ — при других формах внутрибрюшной инфекции. Бактериальное число *Lactobacterium* spp. и *Bifidobacterium* spp. в подвздошной кишке колебалось от $1,7 \times 10^3$ до $1,3 \times 10^9$ КОЕ/мл. Более чем у $2/3$ обследованных их количество достигало цифр, характерных для ниже расположенных отделов кишечника. В пробах содержимого подвздошной кишки половины пациентов обнаружены штаммы бактериоидов с диапазоном бактериальной концентрации $1,3 \times 10^3$ – $9,3 \times 10^4$ КОЕ/мл. Их концентрация при всех формах перитонита не превышала физиологических для данной области значений, составляя в среднем $2,5 \times 10^4$ КОЕ/мл.

По данным литературы [1, 2], токсическая и терминальная фазы перитонита сопровождаются развитием пареза органов желудочно-кишечного тракта, приводящего к возникновению синдрома избыточной колонизации тонкой кишки. Как показало исследование, токсическая фаза перитонита у больных с перфоративными язвами двенадцатиперстной кишки также сопровождается развитием этого синдрома, однако выраженность его значительно меньшая, чем при других формах внутрибрюшной инфекции. Так, концентрация бактерий в тощей и подвздошной кишке таких пациентов всего на 2–4 порядка превышает физиологические границы, что в 100–1000 раз меньше, чем при перитонитах неязвенного происхождения. Наибольший количественный рост наблюдается среди видов семейства энтеробактерий и аэробных грамположительных палочек, а бактериальные виды, доминирующие в верхнем отделе кишечника больных с прободными дуоденальными язвами (*E. coli*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.),

являются ведущими этиологическими агентами внутрибрюшной инфекции. В отличие от перитонитов другой этиологии строгие анаэробные бактерии встречаются в тонкой кишке гораздо реже: так, ни у одного пациента с перфоративной язвой в химусе проксимального отдела тощей кишки не удалось обнаружить бактериоидов, что позволяет воздержаться в таких случаях от деэскалационной антибактериальной терапии.

Выводы. 1. Выраженность синдрома избыточной бактериальной колонизации тонкой кишки у больных с перфоративными дуоденальными язвами значительно меньшая, чем при других формах внутрибрюшной инфекции.

2. Проведение деэскалационной антибактериальной терапии при тяжёлых формах перитонита язвенной этиологии нецелесообразно.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кочеровец В.Н., Перегудов С.И., Ханевич М.Д. Синдром избыточной бактериальной колонизации тонкой кишки // Антибиотики и химиотерапия.—1992.—№ 3.—С. 39–44.
2. Khanevich M.D., Peregudov S.I. The small intestine as the origin of bacteremia in acute diffuse peritonitis // *Nutricion Hospitalaria*.—1996.—Vol. 11, № 6.—P. 317–320.
3. Laboratory procedures in clinical microbiology / Ed. by J.A.Washington.—2nd ed.—New York: Springer Verlag, 1985.—885 p.
4. Savage D.C. Morphological diversity among members of the gastrointestinal microflora // *Intern. Rev. Cytol.*—1983.—Vol. 82, № 2.—P. 305–334.
5. Simon G.L., Gorbach S.L. Intestinal flora in health and disease // *Gastroenterology*.—1984.—Vol. 84, № 1.—P. 174–193.
6. Simon G.L., Gorbach S.L. Human intestinal microflora // *Dig. Dis. Sci.*—1986.—Vol. 31, Suppl. 9.—P. 147S–162S.
7. Thadepalli H., Lou M.A., Bach V.T. et al. Microflora of the human small intestine // *Amer. Surg.*—1979.—Vol. 138, № 6.—P. 845–849.
8. Wadsworth anaerobic bacteriology manual.—4th ed. / Ed. by V.L.Sutter, D.M.Citron, M.A.C.Edelstein, S.M.Finegold.—Belmont, California: Star Publishing Co., 1985.—140 p.

Поступила в редакцию 03.12.2008 г.

S.I.Peregudov, G.I.Sinchenko, A.A.Kurygin,
V.I.Kocherovets

MICROFLORA OF THE SMALL INTESTINE IN PATIENTS WITH PERFORATING DUODENAL ULCERS

The toxic phase of peritonitis in patients with perforating duodenal ulcers is accompanied by the development of syndrome of redundant bacterial colonization of the small intestine. However, it is less pronounced than in other forms of intra-abdominal infection. The greatest quantitative growth in all the patients is observed among the species of the family of enterobacteria and aerobic Gram-positive bacilli, the bacterial species dominating in the upper part of the intestine in health being the leading etiological agents of intra-abdominal infection in patients with perforating duodenal ulcers. Unlike peritonitis of other etiology strict anaerobic bacteria are found in the small intestine much rarer.