

Якісний та кількісний склад мікрофлори клубової кишки залежно від терміну гострої тонкокишкової непрохідності

О.М.Коломоєць

Буковинський державний медичний університет, кафедра хірургії та урології
(завідувач – професор А.Г.Іфтодій)
Чернівці, Україна

Дослідження дисбіозу, який формується при експериментальній гострій тонкокишкової непрохідності у престенотичній частині клубової кишки, виявило участь умовно патогенних ешерихій, бактероїдів, пептокока та грампозитивних ентеробацил. Кількість цих мікроорганізмів швидко зростає і досягає високих цифр (від $6,15 \pm 0,31$ до $8,17 \pm 0,33$ lg КУО/г) у термін від 12 год. до 5 діб. Значне зростання відзначено протягом 12-24 год., через 3-5 діб темп зростання кількості умовно патогенних мікроорганізмів уповільнюється. Кількість пептокока залежить від терміну непрохідності – збільшення терміну призводить до зростання концентрації цього мікроба. Через 12 год. непрохідності петлі ущемленої клубової кишки зростає кількість ешерихій, бактероїдів та пептокока, елімінують грампозитивні стрептобацили. Кількість ешерихій, бактероїдів та пептокока зростає протягом доби і досягає максимуму через 3 доби, через 5 діб їх кількість поступово знижується до рівня, близького до контрольного.

Ключові слова: гостра кишкова непрохідність, клубова кишка, мікрофлора.

Вступ

Гостра кишкова непрохідність серед хірургічної патології є одним з небезпечних захворювань шлунково-кишкового тракту. За таких умов, окрім патофізіологічних змін, що призводять до кишкової та поліорганної недостатності, зазнає значних змін мікрофлора кишечника [3-5]. Оскільки патогенез гострої кишкової непрохідності зумовлений місцевими змінами кишки в ділянці непрохідності [6], вивчення особливостей кількісного та якісного складу мікрофлори тонкої кишки [1] дає можливість визначити нові ланки патогенетично обгрунтованого підходу до лікування цього патологічного синдрому [2].

Метою дослідження було встановити якісний та кількісний склад мікрофлори загального препарату різних відрізків дистального відділу тонкої (клубової) кишки: престенотичний, постстенотичний та петля ущемленої кишки.

Матеріали та методи дослідження

Проведено моделювання експериментальної механічної непрохідності клубової кишки у 12 білих нелінійних щурів-самців віком 18-

20 місяців масою 240-270 г. Контрольну групу становили 5 інтактних щурів, яким робили розріз передньої черевної стінки і не формували непрохідність. Дослідним щурам при аналогічному хірургічному підході формували непрохідність шляхом накладання лігатури на петлю дистального відділу клубової кишки (7 см вище ілеоцекального кута). Через 12, 24 год. та через 3 і 5 діб дослідних щурів (по 3 тварини) виводили з експерименту. Усі втручання та забій тварин проводилися з дотриманням основних положень GLP (1981 р.), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях від 18.03.1986 р., Директиви ЄЕС №609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України №690 від 23.09.2009 р.

У контрольних і дослідних тварин у стерильних умовах забирали частини (1,0-1,5 см) престенотичної, постстенотичної ділянки клубової кишки та петлі ущемленої кишки. У контрольних (інтактних) тварин на відповідному рівні забирали частину (1,5-2,0 см) клубової кишки. Патологічний матеріал, взятий у стерильних умовах, накладали на стерильний вощений папір і зважували. До зваженого матеріалу додавали стерильний розчин натрію хлориду в

Таблиця 1

Динаміка змін якісного складу мікрофлори загального препарату клубової кишки при експериментальній непрохідності (престенотична ділянка)

Терміни дослідження	Статистичні показники	Кількість тварин	<i>E.coli</i>	<i>B.fragilis</i>	<i>P.niger</i>	<i>B.subtilis</i>
Контроль	n	5	5	5	4	3
	C, %		100,0	100,0	80,0	60,0
	Ч.В.		0,29	0,29	0,24	0,18
12 год. непрохідності	n	3	3	3	3	3
	C, %		100,0	66,7	100,0	100,0
	Ч.В.		0,27	0,18	0,27	0,27
	p		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
24 год. непрохідності	n	3	3	3	3	1
	C, %		100,0	100,0	100,0	33,3
	Ч.В.		0,30	0,30	0,30	0,10
	P		>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
	P1		>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
	P2		>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
3 доби непрохідності	n	3	3	3	3	3
	C, %		100,0	100,0	100,0	100,0
	Ч.В.		0,25	0,25	0,25	0,25
	P		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	P1		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	P2		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
5 діб непрохідності	n	3	3	3	3	3
	C, %		100,0	100,0	100,0	100,0
	Ч.В.		0,25	0,25	0,25	0,25
	P		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	P1		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	P2		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Примітки: n – кількість тварин, у яких виявлений таксон бактерій; C – індекс постійності (%); Ч.В. – частота виявлення виду мікроба; P – порівняння з контролем; P1 – порівняння з тваринами через 12 год.; P2 – порівняння з тваринами через 24 год.; P3 – порівняння з тваринами через 3 доби.

10-кратному об'ємі і ретельно гомогенізували матеріал. З досліджуваного матеріалу готували низку 10-кратних розведень (від 10^{-2} до 10^{-10}) на стерильному фізіологічному розчині, з них відбирали по 0,1 мл суміші і проводили посів на сектори твердих селективних та елективних середовищ, що дало можливість виявити широкий спектр аеробних, факультативно анаеробних та облигатно анаеробних мікроорганізмів. Аеробні і факультативно анаеробні бактерії вирощували в термостаті протягом 1-2 діб при оптимальній температурі для кожного виду мікроорганізмів, облигатно анаеробні бактерії культивували в стаціонарному анаеростаті (CO_2 incubator фірми ASSAB, Швеція) протягом 5-7 діб, іноді до 14 діб. Після цього вивчали та підраховували однотипні колонії, з них отримували чисті культури та ідентифікували. Ідентифікацію здійснювали за морфологічними, тинкторіальними, культуральними, біохімічними властивостями (Определитель бактерий Берджи, 1997). Мікробну контамінацію оцінювали за частотою виявлення, індексом постійності виділених видів мікроорганізмів та за інтенсивністю – десятичним логарифмом (lg) від середнього числа життєздатних колонієутворюю-

ючих мікробних тіл – популяційним рівнем в lg КУО/г, а також за коефіцієнтом кількісного домінування та за коефіцієнтом значущості. Кишкову паличку та інші ентеробактерії вирощували на середовищі Ендо, Левіна та Плоскірева, бактероїди і пептококи – на кров'яному агарі для бактероїдів (КАБ), грампозитивні стрептобацили (*B.subtilis*) – на м'ясопептонному агарі.

Отримані цифрові результати опрацьовували згідно з відомими методами математично-статистичного аналізу з використанням критерію (t) при нормальному розподілі величин. Різницю між порівнюваними величинами вважали статистично значущою при $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

У процесі бактеріологічного дослідження проведено вивчення якісного та кількісного складу мікрофлори загального препарату клубової кишки до місця непрохідності (престенотична частина), петлі ущемленої кишки, а також відрізка кишки нижче петлі (постстенотична частина).

Результати вивчення видового складу мікрофлори загального препарату престенотичної

Динаміка змін популяційного рівня мікрофлори загального препарату клубової кишки при експериментальній непрохідності (престенотична ділянка)

Термін дослідження	Статистичний показник	<i>E.coli</i>	<i>B.fragilis</i>	<i>P.niger</i>	<i>B.subtilis</i>
Контроль	M±m	4,97±0,17	5,97±0,21	3,84±0,18	3,76±0,09
	ККД	82,6	99,2	26,6	39,1
	КЗ	0,17	0,20	0,04	0,05
12 год. непрохідності	M±m	7,02±0,23	6,88±0,27	6,58±0,54	6,40±0,43
	ККД	104,5	68,3	97,9	95,2
	КЗ	0,28	0,18	0,26	0,26
	P	<0,01	<0,05	<0,01	<0,01
24 год. непрохідності	M±m	8,02±0,21	8,15±0,31	7,68±0,22	8,00±0,12
	ККД	100,8	102,4	96,5	33,5
	КЗ	0,30	0,31	0,30	0,10
	P	<0,001	<0,01	<0,001	-
	P1	<0,05	<0,05	>0,05	-
3 доби непрохідності	M±m	8,08±0,32	7,60±0,23	7,78±0,27	6,15±0,31
	ККД	109,2	102,7	105,1	83,1
	КЗ	0,27	0,26	0,26	0,21
	P	<0,0001	<0,01	<0,001	<0,01
	P1	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05
	P2	>0,05	>0,05	>0,05	-
5 діб непрохідності	M±m	8,17±0,33	7,90±0,31	7,78±0,19	6,22±0,29
	ККД	108,6	105,1	103,5	82,7
	КЗ	0,27	0,26	0,26	0,21
	P	<0,001	<0,01	<0,001	<0,01
	P1	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05
	P2	>0,05	>0,05	>0,05	-
	P3	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Примітки: ККД – коефіцієнт кількісного домінування виду в мікробіоценозі порожнини кишки; КЗ – коефіцієнт значущості таксона в мікробіоценозі біотопа; M – середній популяційний рівень; m – відхилення від середнього рівня; P – порівняння з контролем; P1 – порівняння з тваринами через 12 год.; P2 – порівняння з тваринами через 24 год.; P3 – порівняння з тваринами через 3 доби.

частини клубової кишки при експериментальній непрохідності наведені в табл. 1.

За даними табл. 1, видовий склад мікрофлори загального препарату клубової кишки до петлі непрохідності протягом 12 год. до 5 діб практично не змінюється. Лише через 24 год. в клубовій кишці в однієї з тварин виявлені грам-позитивні спорові стрептобацили. В усіх інших випадках виявлення видового складу показало його незмінність протягом 5 діб. Для поглибленого вивчення стану мікрофлори будь-якого біотопа необхідно встановити кількісні показники мікрофлори. Результати вивчення змін кількісного складу мікрофлори загального препарату клубової кишки до петлі непрохідності наведені в табл. 2.

Отримані та наведені результати досліджень популяційного рівня в престенотичному відділі клубової кишки свідчать про те, що через 12 год. непрохідності суттєво зростає кількість життєздатних колонієутворюючих кишкових паличок, бактероїдів, пептокока та сінної палички (транзиторний вид бактерій у кишечнику). Кількість кишкових паличок зростає на 41,2%, бактероїдів – на 15,2%, пептокока – на 71,4%, сінної палички – на 70,2%.

З подальшим перебігом непрохідності кількість кишкових паличок зростає на 61,4% порівняно з аналогічним показником в інтактних тварин та на 14,2% порівняно з попереднім терміном. Популяційний рівень бактероїдів також зростає на 36,5% та 18,5% відповідно. Кількість пептокока через 24 год. збільшується в загальному препараті престенотичного відділу клубової кишки вдвічі порівняно з контролем та на 16,7% порівняно з попереднім терміном (через 12 год.).

Через 3 доби ріст ешерихій, пептококів, сінних паличок значно уповільнюється, а кількість бактероїдів зменшується на 7,2% ($p > 0,05$). Популяційний рівень усіх перерахованих умовно патогенних ешерихій, бактероїдів, пептокока та транзиторних сінних паличок значно перевищує такий показник у контрольних дослідженнях, що зберігається і через 5 діб.

У престенотичному відділі клубової кишки формують мікробіоз умовно патогенні ешерихії, бактероїди, пептокок та сінна паличка. Кількість цих мікроорганізмів швидко зростає і через 3-5 діб становить від 6,15 lg КУО/г до 8,17 lg КУО/г. Значне зростання відбувається через 12-24 год., з 3-5 доби темп зростання кількості умовно-патогенних бактерій уповільнюється.

Динаміка змін видового складу мікрофлори загального препарату клубової кишки при експериментальній непрохідності (постстенотична ділянка)

Термін дослідження	Статистичні показники	Кількість тварин	E.coli	B.fragilis	P.niger	B.subtilis
Контроль	n	5	5	5	4	3
	C, %		100,0	100,0	80,0	60,0
	Ч.В.		0,29	0,29	0,24	0,18
12 год. непрохідності	n	3	3	3	3	0
	C, %		100,0	100,0	100,0	-
	Ч.В.		0,25	0,25	0,25	-
	P		>0,05	>0,05	>0,05	-
24 год. непрохідності	n	3	3	3	3	0
	C, %		100,0	100,0	100,0	-
	Ч.В.		0,25	0,25	0,25	-
	P		>0,05	>0,05	>0,05	-
	P1		>0,05	>0,05	>0,05	-
3 доби непрохідності	n	3	3	3	3	0
	C, %		100,0	100,0	100,0	-
	Ч.В.		0,25	0,25	0,25	-
	P		>0,05	>0,05	>0,05	-
	P1		>0,05	>0,05	>0,05	-
	P2		>0,05	>0,05	>0,05	-
5 діб непрохідності	n	3	3	3	3	0
	C, %		100,0	100,0	100,0	-
	Ч.В.		0,25	0,25	0,25	-
	P		>0,05	>0,05	>0,05	-
	P1		>0,05	>0,05	>0,05	-
	P2		>0,05	>0,05	>0,05	-

Примітки: n – кількість тварин, у яких виявлений токсин бактерій; C – індекс постійності (%); Ч.В. – частота виявлення виду мікроба; P – порівняння з контролем; P1 – порівняння з тваринами через 12 год.; P2 – порівняння з тваринами через 24 год.; P3 – порівняння з тваринами через 3 доби.

Суттєвим є виявлення змін видового складу та популяційного рівня мікрофлори клубової кишки, що знаходиться нижче петлі непрохідності (постстенотична частина) клубової кишки. Результати дослідження якісного складу мікрофлори відвідної частини кишки наведені в табл. 3.

Вивчення якісного складу мікрофлори клубової кишки, що знаходиться нижче петлі непрохідності, показало практичну відсутність елімінації із цього біотопа автохтонних факультативних умовно-патогенних аеробних та факультативних анаеробних, а також облигатних анаеробних (бактероїдів, пептокока) бактерій. Елімінують тільки спорові грампозитивні стрептобацили (*B.subtilis*). Не встановлена й контамінація цього біотопа іншими бактеріями. Тобто створена експериментальна непрохідність не призводить до зміни якісного (видового) складу мікрофлори клубової кишки, що знаходиться фізіологічно нижче петлі непрохідності. Вагомим є визначення кількісних показників (популяційного рівня) мікрофлори загального препарату клубової кишки, що відходить від місця непрохідності. Результати вивчення у білих щурів кількості аеробних (кишко-

вих і сінних паличок) та облигатних анаеробних (бактероїдів, пептокока) бактерій у клубовій кишці, що відходить від петлі експериментальної непрохідності залежно від терміну експериментального дослідження, наведені в табл. 4.

В інтактних білих щурів у клубовій кишці найбільша кількість бактероїдів, дещо менша (на 20,1%) кількість ешерихій в 1 г дослідного матеріалу. У клубовій кишці білих щурів виявлено незначну кількість пептокока (на 55,5% менше бактероїдів) та сінної палички (на 58,8%).

Через 12 год. непрохідності зростає кількість аеробних кишкових паличок (на 12,7%) та анаеробного пептокока (на 8,1%), анаеробні бактероїди виявлені в меншій концентрації (зниження на 17,5%). У наступному періоді (через 24 год.) поступово зростає кількість ешерихій (на 20,7% і на 7,1% відповідно), бактероїдів (на 2,4% порівняно з попереднім (через 12 год.) періодом) та пептокока (на 6,3% порівняно з контролем).

Через 3 та 5 діб відзначено зростання кількості мікроорганізмів у клубовій кишці, що відходить від місця непрохідності. Через 3 доби кількість ешерихій збільшилася на 12,7%, бактероїдів – на 34,0%, пептокока – на 60,2%. Через 5 діб популяційний рівень життєздатних

Динаміка змін популяційного рівня мікрофлори загального препарату клубової кишки при експериментальній непрохідності (постстенотичної ділянки)

Термін дослідження	Статистичні показники	<i>E.coli</i>	<i>B.fragilis</i>	<i>P.niger</i>	<i>B.subtilis</i>
Контроль	M±m	4,97±0,17	5,97±0,21	3,84±0,06	3,76±0,09
	ККД	82,6	99,2	26,6	39,1
	КЗ	0,17	0,20	0,04	0,05
Через 12 год. непрохідності	M±m	5,60±0,21	5,08±0,30	4,15±0,19	0
	ККД	113,4	102,8	84,0	-
	КЗ	0,28	0,26	0,21	-
	P	<0,05	<0,05	>0,05	-
Через 24 год. непрохідності	M±m	6,00±0,29	5,20±0,17	4,08±0,14	0
	ККД	117,9	102,2	80,2	-
	КЗ	0,29	0,26	0,20	-
	P	<0,05	<0,05	>0,05	-
	P1	>0,05	>0,05	>0,05	-
Через 3 доби непрохідності	M±m	5,60±0,15	7,08±0,17	6,15±0,22	0
	ККД	89,2	112,7	97,9	-
	КЗ	0,22	0,28	0,24	-
	P	<0,05	<0,05	<0,001	-
	P1	>0,05	<0,05	<0,01	-
	P2	>0,05	<0,05	<0,01	-
Через 5 діб непрохідності	M±m	5,78±0,21	6,00±0,24	5,60±0,19	0
	ККД	99,8	103,6	96,7	-
	КЗ	0,25	0,26	0,24	-
	P	<0,05	>0,05	<0,001	-
	P1	>0,05	<0,05	<0,05	-
	P2	>0,05	<0,05	<0,01	-
	P3	>0,05	<0,05	>0,05	-

Примітки: ККД – коефіцієнт кількісного домінування виду в мікробіоценозі порожнини кишки; КЗ – коефіцієнт значущості таксона в мікробіоценозі біотопа; M – середній популяційний рівень; m – відхилення від середнього рівня; P – порівняння з контролем; P1 – порівняння з тваринами через 12 год.; P2 – порівняння з тваринами через 24 год.; P3 – порівняння з тваринами через 3 доби.

ешерихій зріс на 16,3%, пептокока – на 45,8%. Кількість бактероїдів не збільшується.

При експериментальній непрохідності в клубовій кишці, що знаходиться дистально від петлі, настає елімінація аеробних грамполозитивних стрептобацил, і вони протягом усього періоду дослідження (5 діб) не виникають. Постійно персистерують у цьому біотопі аеробні та факультативно анаеробні кишкові палички, облигатно анаеробні бактероїди та пептокок. Кількість (популяційний рівень) кишкових паличок зростає протягом 12–24 год., згодом їх популяційний рівень стабілізується і становить $5,6\pm 0,15$ lg КУО/г та $5,78\pm 0,2$ lg КУО/г відповідно.

Висновки

1. У престенотичній частині клубової кишки формується дисбіоз, у якому беруть участь умовно-патогенні ешерихії, бактероїди, пептокок та грамполозитивні стрептобацили. Кількість цих мікроорганізмів швидко зростає і досягає високих цифр (від $6,15\pm 0,31$ lg КУО/г до $8,17\pm 0,33$ lg КУО/г) у термін від 12 год. до 5 діб. Значне зростання спостерігається протягом 12–24 год., через 3–5 діб темп зростання кількості

умовно-патогенних мікроорганізмів уповільнюється.

2. З постстенотичної частини елімують грамполозитивні стрептобацили. Кількість ешерихій зростає протягом 12–24 год., згодом їх популяційний рівень стабілізується і досягає від $5,60\pm 0,15$ lg КУО/г до $5,78\pm 0,20$ lg КУО/г. Кількість бактероїдів протягом 3 і 5 доби зростає та становить $7,08\pm 0,17$ lg КУО/г. Кількість пептокока залежить від терміну непрохідності – збільшення терміну призводить до зростання концентрації цього мікроба.

3. У петлі ущемленої клубової кишки через 12 год. непрохідності зростає кількість ешерихій, бактероїдів та пептокока, елімують грамполозитивні стрептобацили. Кількість ешерихій, бактероїдів та пептокока зростає протягом доби і досягає максимуму через 3 доби, через 5 діб їх кількість поступово знижується до рівня, близького до контрольного.

Отримані та наведені у статті результати дослідження є підґрунтям до вивчення можливої транслокації умовно-патогенних бактерій у внутрішні органи, а також для розробки засобів і заходів профілактики наслідків кишкової непрохідності.

Література

1. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. Лабораторные животные. – К.: Вища школа, 1974. – 303 с.
2. Кутовий О.Б., Мішалов В.Д., Кутовий М.О., Шарун О.В. Ентерально-органна транслокація бактерій і генералізація інфекційного процесу в експерименті // Медичні перспективи. – 2003. – Т. VII. – №4. – С. 19-22.
3. Dervinis C., Smailys D., Hatzitheoklitos E. Bacterial translocation and its prevention in acute ileus // Surg. – 2004. – Vol. 10. – №6. – P. 415-418.
4. Elsayed S., Zhang K. Bacteremia caused by Clostridium intestinale // J. Clin. Microbiol. – Vol. 29. – №1. – P. 3-9.
5. Fukushima R., Gianotti L., Alexander J.W. The primary site of bacterial translocation // Arch. Surg. – 1994. – Vol. 24. – P. 687-695.
6. Proctor D.D. Critical issues in digestive diseases // Clin. Chest Med. – 2003. – Vol. 24. – №4. – P. 623-632.

А.М. Коломеец. Качественный и количественный состав микрофлоры подвздошной кишки в зависимости от срока острой тонкокишечной непроходимости. Черновцы, Украина.

Ключевые слова: острая кишечная непроходимость, подвздошная кишка, микрофлора.

Исследование дисбиоза, который формируется при экспериментальной острой тонкокишечной непроходимости в престенотической части подвздошной кишки, выявило участие условно-патогенных эшерихий, бактероидов, пептококков и грамположительных энтеробацилл. Количество этих микроорганизмов быстро возрастает и достигает высоких цифр (от $6,15 \pm 0,31 \text{ lg KYO/g}$ до $8,17 \pm 0,33 \text{ lg KYO/g}$) в срок от 12 ч до 5 сут. Значительный рост отмечен в течение 12-24 ч, через 3-5 сут. темп роста количества условно-патогенных микроорганизмов замедляется. Количество пептококков зависит от срока непроходимости – увеличение срока приводит к росту концентрации этого микроба. Через 12 ч непроходимости петли ущемленной подвздошной кишки возрастает количество эшерихий, бактероидов и пептококков, элиминируют грамположительные стрептобациллы. Количество эшерихий, бактероидов и пептококков растет в течение суток и достигает максимума через 3 сут., через 5 сут. их количество постепенно снижается до уровня, близкого к контрольному.

О.М. Kolomoiets. Qualitative and quantitative composition of microflora of the ileum, depending on the period of acute small bowel obstruction. Chernivtsi, Ukraine.

Key words: acute small bowel obstruction, ileum, microflora.

Research of dysbiosis, which is formed during experimental acute enteric obstruction in prestenotic ileum revealed the presence of opportunistic escherichia, bacteroides, peptococcus and gram-positive enterobacillus. The number of these organisms rapidly increases and reaches high numbers (from $6,15 \pm 0,31 \text{ lg CGU/g}$ to $8,17 \pm 0,33 \text{ lg CGU/g}$) in a period of 12 hours to 5 days. The significant increase observed for 12-24 hours, but after 3-5 days growth of opportunistic microorganisms decreases. Number of peptococcus depends on the obstruction – prolongation lead to higher concentrations of this microbe. After 12 hours of obstruction of strangulated ileum the number of Escherichia, bacteroides, peptococcus increases, but there is elimination of gram-positive streptobacillus. Number of escherichia, bacteroides, peptococcus increases during the day and peaks in 3 days, in 5 days their number gradually decreases to level close to control.

Надійшла до редакції 22.11.2010 р.