

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2007)22-2031-03

双歧杆菌在短肽肠内营养液中的存活力

赵秋玲¹ 李晓明¹ 李富军² 李菊莲³ (兰州军区兰州总医院: ¹ 营养科, ² 科训科, ³ 感染控制科, 甘肃 兰州 730050)

Viability of bifidobacteria in short peptide enteral nutrition solution

ZHAO Qiu-Ling¹, LI Xiao-Ming¹, LI Fu-Jun², LI Ju-Lian³¹Department of Nutrition, ²Department of Training and Research,³Department of Infection Control, Lanzhou General Hospital, Lanzhou Military Area Command, Lanzhou 730050, China

【Abstract】 AIM: To investigate the viability of bifidobacteria in short peptide enteral nutrition solution. **METHODS:** 50 g/L fermentative medium of bifidobacteria was added in 120 g/L short peptide enteral nutrition solution. The preparations were cultured at 37°C anaerobic condition. Samples were taken at 0, 4, 8, 12, 14, 16, 20, 24 h during fermentation. Bacteria counts, A_{550} , acidity and pH values were examined respectively. **RESULTS:** The number of bifidobacteria increased at 0-16 h, peaked at 16 h and declined after 16 h. A_{550} ascended at all time. Acidity significantly increased at 0-14 h, and slowly after 14 h. PH values significantly decreased at 0-12 h, and slowly after 12 h. **CONCLUSION:** Bifidobacteria have better viability in 120 g/L short peptide enteral nutrition solution, and should cease ferment during 12-14 h.

【Keywords】 Bifidobacterium; enteral nutrition; short peptide; viability

【摘要】 目的: 研究双歧杆菌在短肽肠内营养液中的存活力。方法: 将 50 g/L 两歧双歧杆菌悬液加入 120 g/L 短肽营养液中, 37°C 厌氧培养箱中培养, 分别在 0, 4, 8, 12, 14, 16, 20, 24 h 时间点取样进行活菌数、 A_{550} 、酸度和 pH 测定。结果: 在短肽肠内营养液中接种两歧双歧杆菌后, 活菌数在培养 0~16 h 生长速度较快, 16 h 达最高峰, 以后下降。 A_{550} 随着时间的延长而增加。酸度也随着培养时间的延长而增加, 在培养 0~14 h 之间增加较快, 14 h 以后增加缓慢。pH 值随培养时间的延长而下降, 在培养 0~12 h 之间下降较快, 12 h 以后下降缓慢。结论: 双歧杆菌能在 120 g/L 的短肽肠内营养液中较好地存活, 且在 12~14 h 期间应停止发酵。

【关键词】 二裂菌属 肠道营养 短肽 存活力

【中图分类号】 R151.3 **【文献标识码】** A

收稿日期 2007-06-25; 接受日期 2007-09-04

基金项目: 兰州军区医药卫生科研基金(LXH-2006028)

通讯作者: 赵秋玲, 博士, 副主任医师。Tel (0931)8975111 Email:

ygqzhao@163.com

0 引言

临床上有许多危重患者, 在应激状态下可出现一系列代谢改变, 这种代谢紊乱贯穿于危重病的始终, 可引起肠黏膜损害和营养素、维生素 B₁₂、脂溶性维生素的吸收障碍, 导致患者出现一系列营养问题^[1], 肠内营养支持可激活肠道神经内分泌系统, 促进胃肠黏膜生长, 保持肠道及机体免疫系统正常, 维护肠黏膜屏障功能, 改善机体的营养不良^[2]。然而, 有部分患者因抗生素、激素和化疗药物的应用导致菌群失调, 在肠内营养支持的过程中, 出现腹泻, 影响了营养治疗效果^[3]。双歧杆菌是肠道有益菌的主体, 是肠道生物屏障的重要组成部分, 可纠正微生态失衡, 防治肠源性感染^[4]。我们观察双歧杆菌在短肽肠内营养液中存活情况, 为研究益生菌肠内营养制剂提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料 两歧双歧杆菌和双歧杆菌培养基从甘肃省科学院生物所购得。牛奶培养基: 将超市购买来的完达山脱脂奶粉配制成 120 g/L 的浓度, 分装于试管中, 每支 10 mL, 塞上硅胶塞, 置于高压蒸汽灭菌器中, 于 121°C 下灭菌 10 min, 切断电源, 缓慢排气, 冷却后置于冰箱冷藏柜中备用。短肽型肠内营养剂(粉剂)百普素购自荷兰纽迪希亚有限公司, 主要成分为水解乳清蛋白、麦芽糖糊精、植物油、矿物质、维生素、微量元素, 为淡黄色细粉, 略有芳香气, 味微苦涩。在无菌操作条件下配制成 120 g/L 的浓度, 分装于试管中, 每只 10 mL, 塞上硅胶塞。现用现配, 为避免营养素破坏, 配制好的营养液不能高压蒸汽消毒, 采用过滤除菌法。仪器: YQX-II 厌氧培养箱, 净化工作台 2D-2A 型自动电位滴定仪, 6230M 酸度计, 725 s 可见分光光度计, 立式电热压力蒸汽灭菌器, 电热恒温水浴箱, 电子天平, Olympus 显微镜, 电热恒温干燥箱。

1.2 方法 为保证菌种的活力, 每月活化 1 次。方法是在无菌条件下, 按 1:9 的比例将镜检无杂菌的菌悬液加入双歧杆菌培养基中, 37°C 厌氧培养 48 h。按 50 g/L 的接种量将活化后的菌悬液加入 120 g/L 百普素的营养液中, 37°C 厌氧培养 24 h。对上述双歧

杆菌营养液进行色、味、凝固性以及酸甜比例等感官评定。在无菌操作条件下,将菌悬液 0.5 mL 加入牛奶培养基 4.5 mL 中,37℃ 厌氧培养,观察牛奶培养基凝固时间。对 37℃ 厌氧培养的双歧杆菌营养液,按 0, 4, 8, 12, 14, 16, 20, 24 h 时间点取样进行活菌数、 A_{550} 值、酸度和 pH 测定。在培养过程中定时取样 0.5 mL 于 4.5 mL 无菌生理盐水的试管中,进行 10 倍梯度稀释,选择适当的稀释度,吸取 0.2 mL 到琼脂培养基平板中,涂布均匀,置于 37℃ 厌氧培养 48 h,进行菌落计数,并革兰染色观察菌落特征和细菌形态。在无菌操作条件下,定时取样 0.5 mL,适当稀释,采用比浊法测定 A_{550} 值,所测 A_{550} 值乘以稀释倍数即为实际 A_{550} 值。在无菌条件下取出营养液 10 mL 于 50 mL 小烧杯中,加入蒸馏水 20 mL,混匀,用校正过的酸度计进行测定。

2 结果

百普素溶液在加入双歧杆菌后仍呈淡黄色,气味芳香,在原有苦涩味的基础上,略有酸味,不凝固。菌落为圆形,半透明,光亮,突起,全缘,质地较软,针尖般大小。在镜下可见革兰氏染色阳性的多形态杆菌,呈 Y, V 字形,变曲状、刮勺状,其典型的形态是分叉的杆菌,未见其他杂菌(图 1)。接种在百普素中的菌悬液凝乳时间为 272 min。双歧杆菌在短肽营养液中活菌数在培养 0~16 h 之间呈上升趋势,且 0~16 h 生长速度较快,16 h 活菌含量达到最高峰。 A_{550} 随培养时间的延长而增加,在培养 0~16 h 之间 A_{550} 增加较快,16 h 以后增加缓慢(图 2)。酸度随培养时间的延长而增加,在培养 0~20 h 呈上升趋势,20 h 达高峰,20 h 后开始缓慢下降。pH 值随培养时间的延长而下降,在培养 0~12 h 之间,pH 值下降较快,12 h 以后下降缓慢(图 3)。



图 1 短肽肠内营养液中培养 24 h 后的双歧杆菌(革兰染色, $\times 400$)

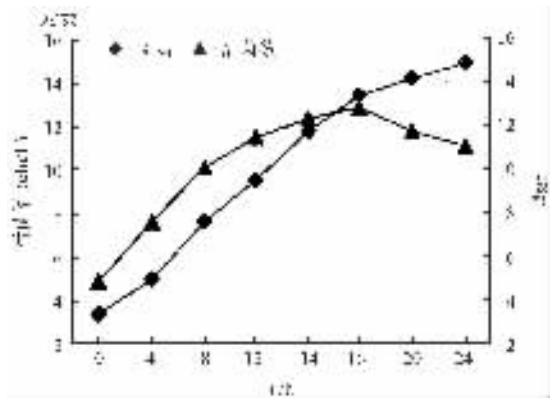


图 2 活菌数和 A_{550} 值变化曲线

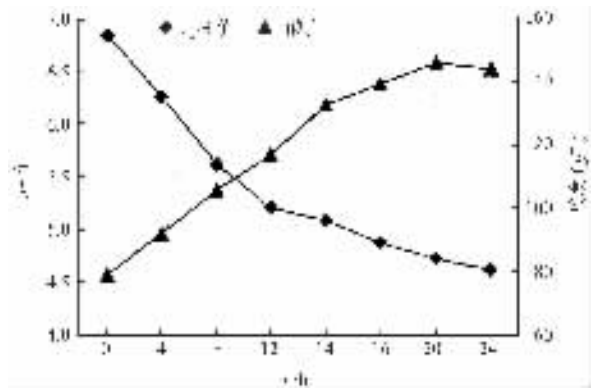


图 3 酸度和 pH 值变化曲线

3 讨论

在短肽型肠内营养制剂——百普素营养液中接种两歧双歧杆菌后,感官性状未发生明显变化,双歧杆菌的形态和菌落形成都比较正常,没有使百普素凝固。凝乳时间与制酸奶的凝乳时间基本相同,表明双歧杆菌在百普素营养液中能够存活。百普素中含有人体需要的各种营养物质,尤其是含有水解乳清蛋白、维生素 B_1 、 B_2 、 B_6 、C、尼克酸、泛酸和叶酸以及盐类。双歧杆菌之所以能在其中生长,可能与此有关。益生菌制品在饮用之前,其益生菌含量必须达到 1×10^9 cfu/L 以上才能达到保健功效,而新鲜的益生菌制品活菌数要求不得低于 1×10^{10} cfu/L 才能补偿益生菌在通过人体胃肠道时活菌数的损失^[5]。我们发现,双歧杆菌在百普素营养液中培养 24 h A_{550} 值一直处于上升趋势,且 16 h 时活菌数达到 7.94×10^{12} cfu/L,达到了益生菌含量的要求。

百普素属于中性要素饮食,其 pH 是双歧杆菌存活的重要条件之一。双歧杆菌不耐酸,在 pH 在 5.0 以下生长缓慢^[6]。我们发现,双歧杆菌在培养过程中,细菌总数一直在增加,活菌数在 0~16 h 之间繁殖较快,16 h 后活菌数下降。营养液中的酸度也随着时间的延长而增加,20 h 后酸度下降。pH 随着时间

的延长而下降,12 h 后下降缓慢,可能是由于双歧杆菌对糖的分解而产生大量的醋酸、乳酸和其他有机酸所致。尽管在 16 h 时营养液中活菌数最多,但此时 pH 已下降到了 4.87,不利于双歧杆菌的进一步的存活和繁殖,16 h 后活菌数下降,在 12~14 h 时 pH 值在 5.0 以上,而此期间活菌含量大于 1×10^{11} cfu/L 数量级,能起到保健功能。临床要求配制好的营养液给患者使用时,营养液要新鲜,不得超过 24 h^[7]。因此接种了双歧杆菌的百普素营养液在培养 12~14 h 时可停止发酵且在 24 h 之前使用。另外,双歧杆菌不耐酸和胆盐,仅适用于鼻空肠和空肠造口患者的肠内营养支持。

【参考文献】

[1] 黄海涛. 肠内营养研究进展[J]. 广西医科大学学报, 2005, 22

(1): 147-149.

[2] 郑建勇, 王为忠, 管文贤, 等. 全胃切除患者术后早期免疫增强型肠内营养的作用[J]. 第四军医大学学报, 2005, 26(18): 1688-1690.

[3] 赵秋玲, 李晓明. 饮食因素与肠道微生态的研究进展[J]. 西北国防医学杂志, 2006, 27(5): 368-370.

[4] Schneider SM, Girard-Pipau F, Filippi J, et al. Effects of *Saccharomyces boulardii* on fecal short-chain fatty acids and microflora in patients on long-term total enteral nutrition[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(39): 6165-6169.

[5] Sanders ME. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health[J]. J Nutr, 2000, 130(2 Suppl): 384S-390S.

[6] 章建浩. 双歧杆菌的生物学特征、生理功能及食品中的开发应用[J]. 食品科学, 2002, 23(10): 141-142.

[7] 程燕玲, 刘娜, 刘亚光. 一次性无菌灌肠器在空肠造瘘营养液灌注中的应用[J]. 西北国防医学杂志, 2007, 28(2): 157.

编辑 吴涛

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2007)22-2033-01

腹腔镜胆囊手术后并发症的原因分析

杨卫红¹, 史晓娟² (¹解放军第 451 医院质量管理科, 陕西西安 710054, ²第四军医大学西京医院骨科, 陕西西安 710033)

【关键词】腹腔镜 胆囊切除术

【中图分类号】R657.4 【文献标识码】B

1 临床资料 我院 2004/2006 年腹腔镜胆囊切除术(LC)术后并发症 15 例,其中术后残余结石 9 例(60%);胆漏 5 例(33%);术后伤口感染 1 例(0.7%)。

2 原因分析

2.1 残余结石 本组胆总管残余结石 9 例,术前 4 例胆石症急性发作,细小结石自胆囊管落入胆总管,术前 2 例患者有黄疸, B 超检查胆总管增宽,未见结石。术中 3 例见胆囊颈部结石嵌顿, Mirizzi 综合征 I 型,术中未行胆道造影。因此,我们认为 ① LC 保留胆囊管残端不可过长,以防止胆囊管残端结石; ② 对胆囊管增粗、胆管扩张、黄疸、慢性胰腺炎等病例应行术中胆道造影; ③ 术中解剖时,尽量把胆囊管向外下牵拉使胆囊管与胆总管成 90°角。同时,术中不可过度挤压和牵拉胆囊,可减少结石落入胆总管的机会。

2.2 胆漏 在临床实践中,我们认为发生胆漏的主要原因有以下几点: ① 钛夹钳未夹紧或松动; ② 胆囊管水肿增厚或增粗钛夹钳夹闭不全; ③ 副肝管或迷走胆管损伤或漏夹; ④ 胆总

管损伤。本组胆漏 5 例, 3 例为胆总管损伤,均为胆管横断伤,术中发现并转开腹行胆管对端吻合术, 2 例因胆囊管水肿增粗,胆囊管夹闭不全而溢胆汁,因此,术中操作严谨,胆囊管施夹时动作轻柔,手术结束前仔细检查,及时处理亦可防止胆漏。

2.3 切口感染 本组发生 1 例,主要为胆汁污染切口所致。因此,术中操作应注意保护切口,取胆囊时采用标本袋,防止胆汁污染及结石散落残留。

3 讨论 LC 最多见的并发症是胆总管损伤,其次是肝总管、胆囊管和变异胆管损伤,再次是胆漏及出血、胃肠损伤^[1],但在本资料中发现的是残留结石,其次是胆漏。

巴明臣等^[2]认为手术宜在发病后 48 h 内进行,发作 48 h 以上者手术难度明显增加,手术中转率增加。王俊等^[3]认为在急性胆囊炎发作后 3 d 内越早做 LC 成功率越高,因为早期胆囊壁水肿轻,胆囊周围还没形成致密粘连,LC 时容易分离。但患者就医时间往往超过了这个时限。

尽管 LC 具有创伤小、痛苦轻、恢复快、腹部瘢痕小等优点。但据大宗病例文献报道,其手术并发症仍高于开腹胆囊切除术,其并发症仍然是影响 LC 疗效和安全性的主要因素^[4],也是引发纠纷的主要原因。因此,加强技能培训,熟练掌握手术时机及解剖位置,严格手术规范,增强责任心是解决 LC 手术并发症行之有效的办法。

【参考文献】

[1] 黄志强. 现代腹腔镜外科学[M]. 北京:人民军医出版社, 1994: 112-123, 153.

[2] 巴明臣, 毛静熙, 陈训如. 急性胆囊炎腹腔镜胆囊切除的时机[J]. 中华消化内镜杂志, 2000, 7(1): 26-27.

[3] 王俊, 李其焕. 1082 例腹腔镜胆囊切除术临床分析[J]. 中华现代医学杂志, 2002, 12(11): 99-100.

[4] Shea JA, Healey MT, Berlin JA, et al. Mortality and complications associated with laparoscopic cholecystectomy[J]. Ann Surg, 1996, 224: 609-620.

编辑 黄良田

收稿日期 2007-06-18; 接受日期 2007-07-10

作者简介 杨卫红. 本科, 主治医师, 科主任. Tel: (029)84734023

Email: yangzhuren451@sina.com