

CO₂ 气腹对大鼠腹膜炎细菌生长及移位的影响



欧梦川¹, 杨显金², 罗云³, 王崇树³

1. 成都市第六人民医院胃肠外科(成都 610000)

2. 内江市第一人民医院普外二科(四川内江 641000)

3. 川北医学院附属医院普外一科(四川南充 637000)

【摘要】 目的 研究不同气腹压力及作用时间对大鼠腹膜炎细菌生长繁殖和细菌移位的影响。方法 于 60 只 SD 大鼠的腹腔内注射大肠杆菌标准混悬液, 建立大鼠急性细菌性腹膜炎模型。本实验给予 3 类气腹压力: 15 mm Hg (1 mm Hg=0.133 kPa) 为高气腹压, 5 mm Hg 为低气腹压, 空白对照组大鼠未建立气腹; 给予 2 类处理时间: 1 h 和 3 h。将 60 只 SD 大鼠模型采用随机数字表法分为 6 组 (每组 10 只), 分别接受不同气腹压力和时间的组合处理。之后抽取腹水进行细菌定量培养和菌种分离鉴定, 收集门静脉血进行血培养和内毒素测定。结果 ① 腹水细菌浓度: 析因设计的方差分析结果表明, 不同气腹压力组的细菌计数不同 ($F=9.02, P=0.02$), 不同时间组的细菌计数也不同 ($F=8.47, P=0.003$), 且不同气腹压力组中时间的影响不同 ($F=8.073, P=0.02$)。② 血培养结果: 6 组大鼠都发生了细菌移位。3 类气腹压力下 1 h 和 3 h 组之间的血培养阳性率类似 ($P>0.05$), 2 个时点下高气腹组的血培养阳性率均高于未建立气腹组 ($P<0.05$)。③ 门静脉血的内毒素含量: 不同气腹压力组的内毒素含量不同 ($F=14.698, P<0.01$), 高气腹组内毒素含量高于低气腹组 ($P=0.018$) 和未建立气腹组 ($P<0.01$), 且低气腹组的内毒素含量高于未建立气腹组 ($P=0.005$); 不同时间组的内毒素含量也不同 ($F=148.9, P<0.01$), 3 h 组的门静脉血内毒素含量高于 1 h 组; 不同气腹压力组中时间的影响的差异不大 ($F=0.135, P=0.874$)。结论 CO₂ 气腹促进了腹膜炎大鼠的肠道内毒素和细菌移位, 并且随压力和时间的增加而严重。

【关键词】 腹膜炎; CO₂ 气腹; 内毒素; 细菌移位; 大鼠

Effects of CO₂ pneumoperitoneum on bacterial growth and translocation of peritonitis rats

OU Mengchuan¹, YANG Xianjin², LUO Yun³, WANG Chongshu³

1. Department of Gastrointestinal Surgery, The Sixth People's Hospital of Chengdu, Chengdu 610000, P. R. China

2. The Second Department of General Surgery, The First People's Hospital of Neijiang, Neijiang, Sichuan 641000, P. R. China

3. The First Department of General Surgery, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, P. R. China

Corresponding author: WANG Chongshu, Email: chongs-wang@163.com

【Abstract】 Objective To study the effect of different carbon dioxide pneumoperitoneum pressure and time on abdominal cavity infection bacteria of peritonitis in rats, including bacteria growth and bacterial translocation. **Methods** Sixty Sprague Dawley rats were injected with *Escherichia coli* into the abdominal cavity to establish models of intra-abdominal infection. To give 3 types of pneumoperitoneum pressure for the experimental group: 15 mm Hg (1 mm Hg=0.133 kPa) for high pressure group, 5 mm Hg for low pressure group, and blank control group for no-pneumoperitoneum. To give 2 types of experimental period: 1 h and 3 h. These 60 Sprague Dawley rats were randomly divided into 6 group by random number table. They were treated by different pneumoperitoneum pressure and time. All rats were killed at the end of the carbon-dioxide pneumo-peritoneum experiment. Peritoneal lavage fluids and portal vein blood were taken for microbiological examinations and culture. The endotoxin content in portal vein blood was detected too. **Results** ① Bacteria counts: bacteria counts of different pneumoperitoneum pressure groups was obviously different ($F=9.02, P=0.02$), bacteria counts of different experimental period groups was obviously different ($F=8.47, P=0.003$), the effect of time was different in different pneumoperitoneum pressure groups ($F=8.073, P=0.02$). ② Bacterial translocation: Bacterial translocation occurred in all 6 groups. Blood culture positive rate was similar between 1 h group and 3 h group at

3 types of pneumoperitoneum pressure group ($P>0.05$). The positive rate of blood culture in high pneumoperitoneum group was significantly higher compared with the no-pneumoperitoneum group ($P<0.05$). ③ The endotoxin content: the endotoxin content of different pneumoperitoneum pressure groups was obviously different ($F=14.698$, $P<0.01$), the endotoxin content in plasma increased obviously in high pressure group compared with low pressure group ($P=0.018$) and no-pneumoperitoneum group ($P<0.01$), the endotoxin content in plasma increased obviously in low pressure group compared with no-pneumoperitoneum group ($P=0.005$). The endotoxin content of different experimental period groups was obviously different ($P<0.01$), the endotoxin content in plasma increased obviously in 3 h group compared with 1 h group. There was no significant difference in the effect of time with different pneumoperitoneum pressure groups ($F=0.135$, $P=0.874$). **Conclusion** Carbon dioxide pneumoperitoneum promoted intestinal bacterial endotoxin and bacterial translocation in peritonitis of rats, and they were increased with the pressure and time.

【Keywords】 peritonitis; CO₂ pneumoperitoneum; endotoxin; bacterial translocation; rat

腹腔镜手术目前正在全球范围内迅速普及,从最初的胆囊切除术逐渐扩展至其他学科领域,其中包括了很多感染性疾病在内,如化脓性阑尾炎、急性胆囊炎、重症急性胆管炎、结核性腹膜炎、胃肠道穿孔等。相比开放性手术,腹腔镜手术具有创伤小、全身反应轻、恢复快、美容效果好等优势。CO₂是目前较常用的创建气腹的气体,其对机体各个系统以及炎症反应影响的研究也较多,但对腹膜炎的影响并没有达成一致的共识。腹腔镜手术的微创性,能更好地保护机体的全身免疫系统,减轻全身的炎症反应,但同时,CO₂气腹也会导致局部腹膜免疫功能的抑制^[1]。有不少实验也验证,CO₂气腹增加了菌血症的发生概率^[2],但同时也在腹腔感染动物模型^[3]中观察到,相比开放性手术,气腹显著延长了大鼠的生存率。Chawla等^[4]和Peng等^[5]的研究也对气腹使腹腔感染扩散的推论予以否定,认为许多感染性疾病通过腹腔镜手术得到了很好的治疗,并没有见到这些感染性疾病出现感染加重或并发症发生的情况。本实验将在大鼠细菌性腹膜炎模型的基础上,通过给予不同时间及不同压力的CO₂气腹,研究气腹压力和作用时间对腹腔细菌的生长繁殖和移位的影响,以探讨CO₂气腹是否增加了败血症的发生概率。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验动物采用60只清洁级SD大鼠(由川北医学院实验动物中心购买),6~12周龄,雌雄不限,体质量200~250g。

1.2 主要试剂及仪器

Stryker全自动气腹机购自美国史赛克公司,梅里埃VITEK2全自动细菌鉴定仪购自法国梅里埃公司,哥伦比亚血琼脂平板和麦康凯培养平板购自鹿

通公司,MB80微生物快速动态检测系统和革兰阴性菌脂多糖检测试剂盒购自北京金山川公司。

1.3 建立急性腹膜炎模型

大鼠禁食、禁水12h,将上腹部处备皮,5%聚维酮碘溶液消毒皮肤,以1%戊巴比妥钠(30mL/kg)腹腔注射麻醉动物。麻醉成功后将大鼠平卧固定在木板上,再分别用腹腔注射法接种1mL的ATCC25922标准大肠杆菌悬液(1×10^8 CFU/mL,CFU为菌落形成单位),建立细菌性腹膜炎大鼠模型。由于本动物实验的目的是模拟腹腔条件下细菌的生长状态,注射的是标准提纯细菌悬液,并没有其他实验因素的干扰,所以针对此种造模方法都是认可的,并没有特意评估小鼠的造模成功评判标准。

1.4 实验方法

本实验给予3类气腹压力,15mmHg(1mmHg=0.133kPa)为高气腹压,5mmHg为低气腹压,空白对照组大鼠未建立气腹;给予2类处理时间,1h和3h。将60只SD大鼠采用按随机数字表随机分为6组(每组10只),分别接受不同气腹压力和时间的组合处理。气腹建立方法:用5mL空针针头于大鼠左下腹部穿刺,连接软质塑料管和Stryker气腹机,按照不同要求设定压力和流速档位。

1.5 标本的采集

按照设定的时间+气腹压力处理后,处死大鼠,大鼠行剖腹处理,在无菌条件下取腹水1mL和门静脉血液0.5mL,各自标号待检,对其分别进行需氧和厌氧菌的定量培养和菌种鉴定。再对抽取的门静脉血进行内毒素测定。

1.6 观测指标

1.6.1 腹水细菌CFU计数 采取倍比稀释平板菌落计数法^[6],取各浓度溶液100μL接种于麦康凯琼脂平板上,分别做需氧菌和厌氧菌的细菌培养。厌氧

菌的培养方法是将培养基放入厌氧袋中、置入 37 °C 孵箱中培养 24 h；需氧菌直接将培养基置入孵箱，条件同厌氧菌。每个浓度做 3 个平板，取其平均值。对需氧和厌氧培养平板的细菌菌落进行计数。计算公式为：细菌含量 (CFU/mL) = (需氧菌 + 厌氧菌) CFU 数 × 稀释度 / 体积，其中体积单位为 mL。

1.6.2 血培养 处死动物后打开腹腔，取门静脉血 0.5 mL，用 0.5 mL 无菌生理盐水稀释。分别取 100 μL 稀释液接种在血平板上，置入孵箱中进行需氧菌和厌氧菌培养（培养条件同上）。有肉眼可见细菌菌落生长则为阳性；如果平板培养 3 d 以后仍没有细菌生长，则为阴性。

1.6.3 内毒素的测定 按照革兰阴性菌脂多糖检测试剂盒说明书进行操作，采用微生物快速动态监测系统中进行检测，反应结束后自动计算出待测血浆中的内毒素含量。

1.7 统计学方法

所有统计数据采用 SPSS 20.0 软件完成数据分析。各组间的细菌 CFU 计数和门静脉内毒素含量都以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。计量资料的统计方法采用两因素析因设计的方差分析，不同气腹压力之间的血培养阳性率比较采用四格表确切概率法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 腹水细菌 CFU 培养结果

不同气腹压力及气腹作用时间下腹水的细菌计数见表 1。析因设计的方差分析结果表明，不同气腹压力组的细菌计数不同 ($F=9.02, P=0.02$)，不同时间组的细菌计数也不同 ($F=8.47, P=0.003$)，且气腹压力和时间存在交互效应 ($F=8.073, P=0.02$)，即不同气腹压力组中时间的影响不同，故应固定时间或气腹压力因素，进一步分析各自处理的单独效应。① 固定气腹压力，分析不同时间因素的影响，结果表明，各气腹压力条件下 1 h 和 3 h 时间组的细菌 CFU 计数比较差异均有统计学意义 ($P<0.01$)，提示大鼠诱发急性细菌性腹膜炎后 3 h 腹水中的细菌浓度较 1 h 增高。② 固定时间因素，分析 1 h 和 3 h 下 3 类气腹压力组的差异。结果表明，作用 1 h 时，3 个气腹压力组间细菌 CFU 计数比较差异无统计学意义 ($F=1.762, P=0.191$)；3 h 时，高气腹组 ($P=0.001$) 和低气腹组 ($P=0.029$) 大鼠腹水的细菌 CFU 计数均高于未建立气腹组，但高气腹组和低气腹组比较差异无统计学意义 ($P=0.220$)。该结果提

表 1 不同气腹压力及气腹作用时间下腹水的细菌计数 ($\times 10^5$ CFU/mL, $n=10, \bar{x} \pm s$)

气腹压力	1 h	3 h
高气腹	5.39±0.96	6.94±0.49
低气腹	4.91±0.87	6.45±1.05
未建立气腹	4.62±0.53	5.55±0.96

示，在 15 mm Hg 和 5 mm Hg CO₂ 气腹处理 3 h 后，细菌在腹腔中的定植量相比未建立气腹大鼠有显著增高，但高气腹和低气腹组的细菌浓度差异不明显。

2.2 腹水细菌的鉴定结果

腹水培养中 6 组都鉴定出了需氧及厌氧细菌，虽然主要培养出的细菌仍然为大肠杆菌 (G^-)，但部分腹水标本也培养出了铜绿假单胞菌 (G^-)、肠球菌 (G^+)、金黄色葡萄球菌 (G^+) 和厌氧细菌。厌氧细菌由于仪器和操作的限制不能做具体菌种的鉴定，但是革兰氏染色可见阴性杆菌和阳性球菌，初步鉴定为拟杆菌和消化链球菌。

2.3 门静脉血培养结果

6 组动物的血培养结果见表 2。由表 2 可见，6 组大鼠都发生了细菌移位。3 类气腹压力下 1 h 和 3 h 组之间的血培养阳性率类似 ($P>0.05$)，2 个时点下高气腹组的血培养阳性率均高于未建立气腹组 ($P<0.05$)，但同时点下低气腹组的血培养阳性率与未建立气腹组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

2.4 门静脉血的内毒素含量结果

不同气腹压力及气腹作用时间下门静脉血内毒素含量见表 3。析因设计的方差分析结果表明，不同气腹压力组的内毒素含量不同 ($F=14.698, P<0.01$)，高气腹组内毒素含量高于低气腹组 ($P=0.018$) 和未建立气腹组 ($P<0.01$)，且低气腹组的内毒素含量高于未建立气腹组 ($P=0.005$)，说明

表 2 不同压力及时间下的血培养阳性结果 (例)

气腹压力	1 h	3 h
高气腹	5	6
低气腹	3	3
未建立气腹	1	2

表 3 不同气腹压力及气腹作用时间下的门静脉内毒素含量 (pg/mL, $n=10, \bar{x} \pm s$)

气腹压力	1 h	3 h
高气腹	73.65±5.60	92.93±6.48
低气腹	68.77±4.13	88.13±4.55
未建立气腹	64.40±4.83	81.98±3.89

门静脉血内毒素含量随着气腹压力的增高而增加；不同时间组的内毒素含量也不同 ($F=148.9$, $P<0.01$)，3 h 组的门静脉血内毒素含量高于 1 h 组；气腹压力和时间不存在交互效应 ($F=0.135$, $P=0.874$)，即不同气腹压力组中时间的影响的差异不大。

3 讨论

肠道是人体最大的细菌及内毒素贮存库，其中定植了很多致病菌与益生菌，但在正常情况下机体并没有感染致病菌，这主要是依赖于完整的肠道黏膜的屏障功能。正常人体肠道黏膜屏障是由正常肠道菌群、免疫屏障和机械屏障构成的，任一部分的异常都能造成肠道通透性的增加，继而发生肠道细菌和内毒素移位^[7-8]。

完整的肠上皮黏膜细胞和紧密连接是构成肠道机械屏障的重要组成部分^[9]。肠道局部的良好血液灌注及供氧是维持正常肠黏膜上皮细胞功能的重要因素。Menconi 等^[10]研究发现，酸中毒环境时，肠黏膜上皮细胞的胞膜结构受损，细胞间紧密连接变得松散，细胞代谢发生障碍，导致细胞跨膜路径和细胞通道同时增加，肠黏膜通透性增高，并且与酸中毒程度呈正相关。程君涛等^[11]指出，腹内压增高可引起小肠血流量显著降低，黏膜上皮细胞发生急性缺血缺氧而导致其结构和功能发生改变，损害的程度也与压力的大小及作用时间有关。而赵晓琴^[12]等也证明了腹内压增高时，会造成小肠上皮细胞显著损害和细胞间紧密连接 (tightjunction) 的疏松，导致肠黏膜通透性增高。肠道的细菌和内毒素更容易进入血液和淋巴，造成远处器官细菌的播散。

CO₂ 气腹造成肠道细菌移位及菌血症的具体机制尚在研究中，一定压力的气腹可能造成肠道机械屏障的破坏，从而促进了细菌的移位^[13]。Strier 等^[14]的实验也证明了这种相关性可能与激活肠上皮细胞 Toll 样受体 4 (TLR-4) 信号通路有关，从而产生各种炎性细胞因子损伤肠道上皮细胞。大鼠腹膜炎本身就会导致肠道细菌的移位，这可能与炎症反应造成的肠黏膜屏障功能损害有关，且移位的细菌以厌氧菌为主^[15-16]。而且，Li 等^[17]的研究表明，腹腔内感染和气腹压力的联合作用与单个作用因素比较，加剧了它们对肠道上皮屏障的损伤。

大肠杆菌和各种致病菌在合适的培养条件下，在对数期内每隔 20 ~ 30 min，细菌数量就会成倍增长，直至养份的消耗及代谢废物的增加数量达到稳

定^[18]。而当生长条件改变时，细菌的生长动力学也会受到影响^[19]。尽管 CO₂ 可以通过碳酸氢盐的形式影响细菌细胞质内的 Ph 值继而抑制细菌的生长^[20]，但有实验^[21]证明，CO₂ 本身可能也是一种细菌的生长抑制剂。但目前大部分的实验都是在 CO₂ 高压或者体外环境下实现的，而 CO₂ 在腹腔感染情况下对各种细菌生长繁殖和各种毒力的影响鲜有报道。

Sare 等^[22]在腹腔注射大肠杆菌致腹膜炎的气腹模型中观察到，CO₂ 气腹组的腹腔细菌计数对比开腹组和对照组有显著升高，但他并没有将需氧和厌氧菌分开检测。Sare 等^[23]在兔的腹膜炎模型中证明了，CO₂ 气腹组刺激了厌氧菌的增殖，降低了机体清除细菌的能力，最终导致腹腔脓肿的形成和腹膜炎的扩散，这可能是由于 CO₂ 导致了缺氧环境引起的。Matsumoto 等^[24]发现，CO₂ 气腹可能在抑制局部免疫应答方面起重要作用，导致了机体清除细菌能力的降低。但 Casaroli 等^[25]却观察到，CO₂ 气腹并没有改变腹膜清除细菌的能力。这需要更多的实验研究去解释产生这一矛盾结论的原因。CO₂ 气腹促进细菌的增殖及移位，以及降低腹膜细菌清除能力这三者之间的相互关系还需要进一步探索。

本实验结果显示，6 组大鼠的血培养都能培养出需氧和厌氧菌，且以厌氧革兰阴性杆菌为主，需氧菌以大肠杆菌和金黄色葡萄球菌为主，其主要来源于肠道的定植菌；以 15 mm Hg 的 CO₂ 气腹压力对腹膜炎大鼠作用 3 h 后的细菌血培养阳性率高于其他组；大鼠门静脉血中的内毒素含量随气腹压力及作用时间的增加呈进行性增高，且 15 mm Hg CO₂ 气腹压力组在各时间点下的内毒素含量都高于 5 mm Hg CO₂ 气腹压力及未建立气腹组，5 mm Hg CO₂ 气腹组 3 h 时的门静脉血中的内毒素含量高于同时点的未建立气腹组，说明 CO₂ 气腹促进了腹膜炎大鼠的肠道内毒素产生和细菌移位，并且门静脉血中的内毒素含量随压力和时间的增加而升高；即使在低压 CO₂ 气腹状态下，长时间的作用也能够促进腹膜炎大鼠内毒素的移位。

由于实验大鼠最初通过腹腔注射大肠杆菌混悬液造成了急性细菌性腹膜炎，腹腔内并无其他细菌感染，可认为腹水培养出的细菌主要是由肠道细菌移位而来。本实验结果显示，经过 CO₂ 气腹处理 3 h 后，细菌在腹腔中的定植量有显著增高，但气腹压力的变化并没有使细菌的浓度有显著性地增高。结合之前气腹促进了细菌和内毒素移位的结论，笔者推测，即使 CO₂ 气腹抑制了需氧菌 (如大肠杆菌、肠球菌等) 的增殖，但同时也促进了厌氧

菌类如类杆菌的增殖,并降低了局部腹腔清除细菌的能力,使总的细菌 CFU 在气腹处理后有所升高,增加了败血症及全身感染扩散的风险。所以,临床上在进行腹腔镜手术时,在有效暴露手术视野的前提下,应该尽量减少气腹持续的时间和压力,甚至选用无气腹腹腔镜手术,力求将 CO₂ 气腹对细菌性腹膜炎的不利影响降到最低,充分发挥腹腔镜微创手术的优势。

参考文献

- 1 Kos M, Kuebler JF, Jesch NK, *et al.* Carbon dioxide differentially affects the cytokine release of macrophage subpopulations exclusively via alteration of extracellular pH. *Surg Endosc*, 2006, 20(4): 570-576.
- 2 Suematsu T, Hirabayashi Y, Shiraishi N, *et al.* Morphology of the murine peritoneum after pneumoperitoneum vs laparotomy. *Surg Endosc*, 2001, 15(9): 954-958.
- 3 Chatzimavroudis G, Pavlidis TE, Koutelidakis I, *et al.* CO₂ pneumoperitoneum prolongs survival in an animal model of peritonitis compared to laparotomy. *J Surg Res*, 2009, 152(1): 69-75.
- 4 Chawla BK, Teitelbaum DH. Profound systemic inflammatory response syndrome following non-emergent intestinal surgery in children. *J Pediatr Surg*, 2013, 48(9): 1936-1940.
- 5 Peng H, Zhang J, Cai C, *et al.* The influence of carbon dioxide pneumoperitoneum on systemic inflammatory response syndrome and bacterial translocation in patients with bacterial peritonitis caused by acute appendicitis. *Surg Innov*, 2018, 25(1): 7-15.
- 6 杜慧竟,石继春,李江姣,等.细菌悬液两种计数方法的比较.中国医药导报,2016,13(6):146-149.
- 7 黎介寿.加强对肠屏障功能障碍的研究.中国临床营养杂志,2003,11(4):243-245.
- 8 Steinberg SM. Bacterial translocation: what it is and what it is not. *Am J Surg*, 2003, 186(3): 301-305.
- 9 李琴,刘立新.肠黏膜屏障与肠源性内毒素血症的关系研究进展.中华消化病与影像杂志:电子版,2012,2(4):291-294.
- 10 Menconi MJ, Salzman AL, Unno N, *et al.* Acidosis induces hyperpermeability in Caco-2BBE cultured intestinal epithelial monolayers. *Am J Physiol*, 1997, 272(5 Pt 1): G1007-G1021.
- 11 程君涛,肖光夏,冯智,等.腹内高压致肠黏膜屏障损伤的实验研究.中华烧伤杂志,2006,22(2):33-37.
- 12 赵晓琴,陈英,邝晓聪,等.腹内高压对肠黏膜屏障功能损伤的影响.世界华人消化杂志,2013,21(34):3790-3798.
- 13 Tuğ T, Ozbas S, Tekeli A, *et al.* Does pneumoperitoneum cause bacterial translocation? *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*, 1998, 8(6): 401-407.
- 14 Strier A, Kravarusic D, Coran AG, *et al.* The effect of elevated intra-abdominal pressure on TLR4 signaling in intestinal mucosa and on intestinal bacterial translocation in a rat. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*, 2017, 27(2): 211-216.
- 15 李锟,吴承堂,张军花,等.严重腹腔感染早期肠黏膜病理损害的实验观察.南方医科大学学报,2006,26(2):202-204.
- 16 Vaishnavi C. Translocation of gut flora and its role in sepsis. *Indian J Med Microbiol*, 2013, 31(4): 334-342.
- 17 Li Y, Ren J, Wu X, *et al.* Intra-abdominal infection combined with intra-abdominal hypertension aggravates the intestinal mucosal barrier dysfunction. *Biosci Rep*, 2018, 38(1): 1-10.
- 18 Piñero-Fernandez S, Chimereel C, Keyser UF, *et al.* Indole transport across *Escherichia coli* membranes. *J Bacteriol*, 2011, 193(8): 1793-1798.
- 19 Martínez H, Buhse T, Rivera M, *et al.* Effect of the volume-to-surface ratio of cultures on *Escherichia coli* growth: an experimental and theoretical analysis. *Curr Microbiol*, 2012, 65(1): 60-65.
- 20 Merlin C, Masters M, McAteer S, *et al.* Why is carbonic anhydrase essential to *Escherichia coli*? *J Bacteriol*, 2003, 185(21): 6415-6424.
- 21 Dixon NM, Kell DB. The inhibition by CO₂ of the growth and metabolism of micro-organisms. *J Appl Bacteriol*, 1989, 67(2): 109-136.
- 22 Sare M, Yesilada O, Gürel M, *et al.* Effects of CO₂ insufflation on bacterial growth in rats with *Escherichia coli*-induced experimental peritonitis. *Surg Laparosc Endosc*, 1997, 7(1): 38-41.
- 23 Sare M, Demirkiran AE, Tastekin N, *et al.* Effects of laparoscopic models on anaerobic bacterial growth with *Bacteroides fragilis* in experimentally induced peritonitis. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*, 2003, 13(3): 175-179.
- 24 Matsumoto T, Tsuboi S, Dolgor B, *et al.* The effect of gases in the intraperitoneal space on cytokine response and bacterial translocation in a rat model. *Surg Endosc*, 2001, 15(1): 80-84.
- 25 Casaroli AA, Mimica LM, Fontes B, *et al.* The effects of pneumoperitoneum and controlled ventilation on peritoneal lymphatic bacterial clearance: experimental results in rats. *Clinics (Sao Paulo)*, 2011, 66(9): 1621-1625.

收稿日期: 2018-06-25 修回日期: 2018-09-27

本文编辑: 罗云梅