

术患者肝门肿块、肝门部淋巴结、肝脏转移、门静脉侵袭、肝动脉侵袭的诊断符合率分别为100%、84%、70%、90%和47%。

日本学者<sup>[4]</sup>主张PTC后使用经皮经肝脏胆道镜检查(PTCS)来评估胆管受累范围,符合率达78%。本组8例行PTCS,我们体会PTCS检查前需建立窦道,15d后才能行PTCS,建立窦道时有一定的创伤和痛苦,要求一定的技术和设备,且影像学的符合率已很高,因此,PTCS广泛应用受到一定的限制。

本组150例肝门部胆管癌经各种影像学检查综合评价进展范围,评估手术的可能性79例行手术治疗,根治性切除率达56%,姑息性切除率达32%,71例行非手术引流治疗,取得了十分满意的疗效,提高了手术切除

率,降低了不能切除的剖腹探查例数,值得临床推广。

总之,综合各种影像学检查能够很好地评价肝门部胆管癌的进展范围,可以很好地指导临床医师采用手术或非手术引流治疗。

#### 4 参考文献

- 1 Bismuth H, Castaing D, Tranynor O. Resection or palliation: priority of surgery in the treatment of hilar cancer. *World J Surg* 1998;12:39-47
- 2 解丽梅,张铭琰,刘守君,张军. 超声对肝门部胆管癌的术前评估. *中国临床医学影像杂志* 1999;10:341-343
- 3 何婉媛,王文平,毛枫,徐智章. 超声对肝门部胆管癌术前分期诊断. *中国医学影像技术* 2000;16:113-117
- 4 坂本英至,二村雄次,神谷顺一,近藤哲,柳野正人,宫地正彦,金井道夫,上坂克彦. 肝门部胆管癌に対する胆管上流侧切除范围-PTBD造影およびPTCSによる进展范围诊断. *日消外会志* 1997;30:2069-2073

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2003年版权归世界胃肠病学杂志社

• 临床经验 •

## 分离培养在 Hp 感染诊断中的重要地位

史济经,闵海阳,王青,杨慧芳,王洪涛,张振华

史济经,闵海阳,上海市江湾医院消化内科 上海市 200434  
王青,上海市江湾医院检验科 上海市 200434  
杨慧芳,上海市江湾医院病理科 上海市 200434  
王洪涛,张振华,上海第二医科大学微生物教研室 上海市 200025  
项目负责人:史济经,200434,上海市江湾医院消化内科. sjjih@163.com  
电话:021-65422593-2118 传真:021-65317833  
收稿日期:2002-08-24 接受日期:2002-10-03

### 摘要

目的:对三种常用幽门螺杆菌感染诊断方法(细菌分离培养、快速尿素酶试验、病理组织切片)进行比较。

方法:对312例胃部不适患者的胃窦部活检组织分别使用以上三种方法检测幽门螺杆菌,然后进行阳性检出率的比较。

结果:细菌分离培养、快速尿素酶试验、病理切片的 Hp 检出率分别为60.26%,69.23%及46.15%。快速尿素酶试验、病理切片与细菌分离培养的不符合率分别为14.1%和25.6%。

结论:同其他两种方法相比,细菌分离培养是一种特异性高,敏感性强,技术设备要求不高,价廉的好方法。

史济经,闵海阳,王青,杨慧芳,王洪涛,张振华. 分离培养在 Hp 感染诊断中的重要地位. *世界华人消化杂志* 2003;11(6):867-869

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/867.asp>

### 0 引言

大量研究表明幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)是胃十二指肠疾病的重要致病因子。目前,用于 Hp 感染的诊断方法多种多样,有的虽好,但不易普及<sup>[1]</sup>;有的虽

然简便,但尚存在较大缺点<sup>[2-4]</sup>。2000年发表的专家对 Hp 若干问题的共识意见(以下简称“共识意见”)提出了对 Hp 感染的“科研诊断标准”和“临床诊断标准”。我们对分离培养和其他两种常用的 Hp 感染诊断方法进行了比较分析。

### 1 材料和方法

1.1 材料 2000-03/09 因胃部不适而来医院做胃镜检查者312例,其中男198例,女114例,年龄范围12-81岁,平均48.4岁,记录其一般资料、主要症状及体征,还包括询问前2wk内的用药情况。对每例进行电子胃镜检查(GIF240),在胃窦部距幽门2-3cm处取五块活检标本。

#### 1.2 方法

1.2.1 细菌分离培养 从胃窦部距幽门2cm处取活检组织2块,接种于同一块 Hp 选择性血平板(HPSBP)左右两侧,置于专门设计的微需氧罐<sup>[5]</sup>,37℃条件下培养3-4d,根据菌落特征,涂片镜检、尿素酶、触酶、氧化酶试验鉴定 Hp 菌。

1.2.2 快速尿素酶试验(RUT) 从患者胃窦部取活检组织一块,立即放入自制的尿素酶试剂中(半固体)观察颜色变化,2h内变玫瑰红色者为阳性,不变色者为阴性。若制剂本身已从橙黄色变为橙红色即弃之不用。

1.2.3 病理组织切片(SEC) 从胃窦部取活组织一块,常规固定、包埋、切片,0.25%碱性复红染色,镜检下观察 Hp,以典型螺旋状形态作为阳性标准;在其邻近处另取一块组织送常规病理检查。

统计学处理 对实验结果用 McNemar 方法检验。

## 2 结果

### 2.1 三种不同方法 Hp 检出率(表 1)

表 1 三种不同方法 Hp 总检出率  $n(\%)$

	$n$	阳性数	阴性数
分离培养(一块)	312	188	124
尿素酶试验	312	216	96
病理切片	312	144	168

$\chi^2=38.43$  DF=2 P <0.01.

表 2 312 例中近期未用抗菌药物分离培养检出情况  $n(\%)$

	胃炎	胃溃疡	十二指肠溃疡	胃癌
分离(+)	37	24	56	2
培养(-)	52	10	8	7

$\chi^2=39.903$  DF=3 P <0.01.

2.2 近期未用抗菌药物分离培养的检出情况 312 例患者中, 2 wk 内未经抗 Hp 药物治疗 196 例, 一块活检组织分离培养阳性 119 例, 检出率为 60.71%, 其中十二指肠溃疡的 Hp 阳性率最高(表 2).

2.3 分离培养与其他两种方法的比较 312 例患者中以分离培养为金标准与其他两种试验分别比较(按“国内共识”中的“临床标准”)(表 3 a 和表 3 b).

表 3a 分离培养和 RUT 比较  $n(\%)$

分离培养	$n$	RUT	
		阳性	阴性
阳性	188	180	8(2.57) <sup>a</sup>
阴性	124	36(11.54) <sup>a</sup>	88

$\chi^2=19.1136$  DF=1 P <0.01(McNemar 检验)

a 阳性或阴性不相符率 = 阳性或阴性不相符数 / 总检查数  $\times 100\%$

表 3b 分离培养和 SEC 比较

分离培养	$n$	SEC	
		阳性	阴性
阳性	188	126	62(19.87)
阴性	124	18(5.77)	106

$\chi^2=23.1125$  DF=1 P <0.01(McNemar 检验).

2.4 分离培养和 SEC - RUT 的比较 以“国内共识”的“科研诊断标准”为依据把病理 - 快速尿素酶(SEC-RUT)的共同结果与分离培养相比较所呈现的阳性与阴性不符合程度(表 4a, 表 4b).

表 4a 分离培养和 SEC-RUT 比较  $n(\%)$

分离培养	$n$	SEC-RUT	
		阳性	阴性
一块活检	188	124	64(20.5)
	124	15(0.05)	109

$\chi^2=29.2$  DF=1 P <0.01(McNemar 检验).

表 4b 分离培养和 SEC-RUT 比较  $n(\%)$

分离培养	$n$	SEC-RUT	
		阳性	阴性
二块活检	201	133	68(21.8)
	111	6(0.02)	105

$\chi^2=56.3$  DF=1 P <0.01(McNemar 检验)

## 3 讨论

3.1 从三种 Hp 感染诊断方法的总检出率已初步可以看出以分离培养作为 Hp 感染诊断的金标准的重要性. 100 a 来人们已经用分离培养的方法发现了大多数人类感染性疾病的病原体(包括 Hp), 并把他确认为临床诊断这些病原体感染的主要依据(即金标准). 可是为什么迄今人们未能把分离培养直接用于 Hp 感染的临床诊断呢? 20 a 前用分离培养的方法发现了 Hp, 由于 Hp 是一种微需氧菌与大多数人类常见的需氧菌或厌氧菌的病原菌不一样, 因此没有非常成熟的分离培养方法, 当时的方法有: 自动控制的三气培养箱、抽气换气法、培养盒 + 产气袋等, 由于这些方法不能稳定地提供 Hp 生长所需的微环境<sup>[6]</sup>, 检出率一直较低, 只能达到 30% 左右, 因此 1980 年代中期国外有些学者开始另辟蹊径. 根据 Hp 普遍具有尿素酶和形态上有螺旋样弯曲的特征, 分别开始用快速尿素酶试验(RUN)和病理切片(SEC)找 Hp 两种方法代替分离培养方法用于临床诊断, 不久又发展了多种同位素示踪方法以显示尿素酶的存在<sup>[7-9]</sup>. 由于这些检测方法非常简便, 而使临床逐渐放弃了用分离培养方法诊断 Hp 感染的努力. 进一步甚至反客为主地发展到争论究竟应以呼气试验还是以取活检方法(包括分离培养, 病理切片、直接涂片找菌和快速尿素酶试验)作为金标准的问题<sup>[6]</sup>. 直到上世纪末, 国内在一些专家的积极推动下, 把国外流行的做法未经自己的实验检验, 主观的整理成国内“临床诊断标准”和“科研诊断标准”的共识<sup>[6]</sup>. 这就造成了更加可怕的后果, 使有关的临床工作者有可能不自觉的误入歧途.

近年来我们采用上海第二医科大学微生物教研室设计的培养罐及提供的培养基, 经 3-4 d 培养后, Hp 检出率高达 60.3%, 与本试验 RUT 及 SEC 两种方法相比检出率介于其间(RUT 检出率为 69.2%, SEC 检出率为 46.2%), 使分离培养取得了良好的效果. 我们知道尿素酶试验可测定尿素酶的作用, 可是尿素酶并不是 Hp 所独有. 现已

知道消化道中至少有400种以上的细菌,其中除Hp以外,至少有一、二十种以上常见的细菌可以产生尿素酶<sup>[10]</sup>,因此RUT产生假阳性是不可避免的.另外尿素酶是一个蛋白质分子,少量分子的尿素酶决不可能使现有的RUT试剂在一定时间内产生肉眼能见的反应<sup>[10]</sup>.因此也不可避免地产生假阴性.病理切片找菌,尚无明确的诊断Hp的具体标准.按推理来讲,只可能有两个标准.(1)按Hp典型形态确定,但因为药物作用等原因发生形态变异或因为切片的位置、方向不妥,就很容易发生漏诊.(2)若把Hp的杆形和圆球形变异也包括进去,就不可避免地把消化道许多杆菌和球菌都包括进去了.根据上述原因,我们可知RUT与SEC是仅凭活检中Hp的一个因素判定Hp.而分离培养却是至少依据下列多种因素判定的.(1)在特定的适于Hp生长的环境下生长的纯种活菌,且具有典型菌落.(2)这一纯种活菌兼有尿素酶作用和Hp典型形态两方面的特征.而且标本中只要有一个活菌存在,在合适的培养条件下,经过数天培养,即能繁殖成一个肉眼可见的具有典型特征的菌落.因此他既不会产生假阳性,又是诊断Hp最敏感的方法.

3.2 以分离培养作金标准,明显地证明了RUT与SEC方法的不符合程度.表3a、3b用方差法比较了RUT与SEC对分离培养的不符合程度.用MeNemar检验P值均为 $<0.01$ .本实验中RUT是自制的,判定结果时间为2h,所得结果假阳性率为11.54%(76/312),假阴性率为2.56%(8/312),对分离培养的总不符合率为14.10%(44/312),总符合率为85.89%(268/312).而SEC是在电镜下根据典型形态判定的,所得结果假阳性率为5.77%(18/312),假阴性率为19.87%(62/312),对分离培养的总不符合率为25.64%(80/312),总符合率为74.36%(232/312).由此可见,RUT受酶作用有关的因素及个人对判断标准的认识程度等的影响很大.本文用方差法比较,明显地显示出了SEC与RUT的弱点.其结果示于表1、表2,与分离培养的总检出率相呼应.

3.3 其他方法的两两组合并不能从根本上改变RUT与SEC对分离培养的不符合程度.表4a、4b显示了SEC与RUT两两组合与分离培养相比较的结果,表4a显示了

一块活检作分离培养与SEC与RUT两两组合相比,用MeNemar检验P值均为 $<0.01$ .阳性不符合率为4.80%(15/312),阴性不符合率为20.51%(64/312),总不符合率为25.32%(74/312),总符合率为74.69%(233/312).在表4a中SEC-RUT用的是两块活检标本,而分离培养用的是一块活检标本.为了更合理的比较,表4b均用两块活检标本进行比较,经MeNemar检验P值仍 $<0.01$ ,但是总不符合率下降了1.6%,达到了23.71%.从本试验资料来看,其他方法的两两组合并不能从根本上改变RUT与SEC对分离培养的不符合程度.

总之,本文初步在312例胃、十二指肠疾病患者中用一种比较成功的方法分离培养与目前临床常用的RUT与SEC及其两两组合进行比较,发现后者总符合率仅为74.36-85.90%,不符合率高达14.10-25.64%.其造成的误诊、误治的后果是相当严重的,间接还造成大量医疗资源的浪费和相关科研结论的失实.尽管我们这一数据不是绝对的,在不同的医院中因不同的患者人群组成的差异会有一些的变化,但总的趋势是可以肯定的.只要Hp感染是胃及十二指肠疾病的主要致病菌,我们就不能放弃把分离培养技术逐步应用于临床的努力.

#### 4 参考文献

- 1 刘厚钰. 幽门螺杆菌感染检测的选择. 中华消化杂志 1998;18:259
- 2 范学工,夏华向. 幽门螺杆菌感染 - 基础和临床. 第1版. 湖南: 湖南科学技术出版社, 1998:131-136
- 3 范学工,夏华向. 幽门螺杆菌感染 - 基础和临床. 第1版. 湖南: 湖南科学技术出版社, 1998:136-148
- 4 中华医学会消化病学分会. 幽门螺杆菌若干问题的共识意见. 中华消化杂志 2000;20:117-118
- 5 胡伏莲,周殿元. 幽门螺杆菌感染的基础与临床. 修订版. 北京: 中国科学技术出版社, 2002:323-326
- 6 胡伏莲,周殿元. 幽门螺杆菌感染的基础与临床. 修订版. 北京: 中国科学技术出版社, 2002:28-46
- 7 胡伏莲,周殿元. 幽门螺杆菌感染的基础与临床. 修订版. 北京: 中国科学技术出版社, 2002:279-283
- 8 胡伏莲,周殿元. 幽门螺杆菌感染的基础与临床. 修订版. 北京: 中国科学技术出版社, 2002:284-289
- 9 胡伏莲,周殿元. 幽门螺杆菌感染的基础与临床. 修订版. 北京: 中国科学技术出版社, 2002:290-294
- 10 史肖云,张振华. 分离培养诊断Hp感染的价值. 世界华人消化杂志 2001;9:563-565