

• 校友来稿 •

胃幽门弯曲菌感染尿素酶法 诊断试纸的研制

李瑜元* 杜国光 林赛贞 黄锦华 吴惠生 程淑芳 黄必强

(广州市第一人民医院)

Stuart L. Hazell

(澳大利亚新南威尼斯大学)

提 要 胃幽门弯曲菌感染和许多上胃肠道疾病有关,胃镜下取活检组织进行尿素酶试验是临床上简便实用的检测方法,传统使用的尿素酶试液或琼脂不便于贮存和运输,为此我们研制成快速尿素酶试纸。在159例连续胃镜检查病人的前瞻性研究中,试纸诊断的敏感性为80%,特异性100%,达到国内外快速尿素酶试液和琼脂的水平,试纸于室温中保存半年不失效,体积小可通过信件邮寄。快速尿素酶试纸的研制成功将有助于幽门弯曲菌临床研究的普及。

关键词 幽门弯曲菌 尿素酶试验 慢性胃炎 消化性溃疡

幽门弯曲菌(*Campylobacter pylori*,下称幽弯菌)是寄居于胃粘膜上皮和粘液之间的微需氧菌,1983年在澳大利亚分离培养成功以后引起广泛的重视^[1],研究表明幽弯菌感染和一些常见上胃肠道疾病有关^[2,3]。在我国该菌感染率占接受常规胃镜检查病人的62%,属世界高发地区^[4],在胃镜检查病人中,幽弯菌的检测可依靠胃组织活检病理切片、细菌培养和尿素酶试验3项检查,前两项被认为是诊断的“金标准”,但费时费力,而尿素酶试验简单快速实用。近年来已在临床广泛应用,并有很高敏感性^[5]。现时国内外使用尿素酶试验的试剂有液体和琼脂两种,均需冰冻保存,购置运输不方便,且价格较贵,难于在临床中广泛推广。我们研制尿素酶快速诊断试纸(下称试纸),更方便实用,现报告如下。

材 料 和 方 法

研究对象 共159例因胃肠症状而接受胃镜检查的连续住院病人,其中男95例,女64

例,年龄20~90岁,平均45岁。病种包括十二指肠溃疡73例,胃溃疡12例,复合溃疡6例,慢性浅表性胃炎51例,慢性萎缩性胃炎5例,残胃炎3例,吻合口溃疡3例,胃癌、胃息肉和食道癌各1例,未发现病变3例。

胃镜检查 按常规进行,作出诊断。每例均用大号活检钳于幽门(或吻合口)前5cm内前壁处连续取粘膜组织5块,部位尽量接近,2块送病理,各1块分别送细菌培养、尿素酶试液和尿素酶试纸检查。

病理检查 标本用10%福尔马林固定,连续切片,用HE和Warthin—Starry银染色,作组织学和幽弯菌诊断。

细菌学检查 将活检标本研磨碎,即于Skirrow培养基上划线培养,置37℃微需氧条件下培养3~7天^[6]。

尿素酶试液 按Hazell配方配制^[7],使用时置75μl于40孔酶标免疫塑料板孔中,活检组织放入液内,于15、30和60分钟3次观察结果,液体变红为阳性。

尿素酶试纸 根据Hazell尿素酶试液配方改良,主要是加大尿素和酚红浓度及适当提高缓冲能力。用定量滤纸浸泡吸附试液后风干,

* 我校1968届校友

裁剪成小块置于有凹陷的硬塑料纸板上,用透明塑料粘胶纸覆盖,常温保存。使用时把透明胶纸揭开,把活检组织置于试纸上,再加注射用水1滴,然后把透明胶纸复盖回原位,15、30和60分钟3次观察结果。试纸变紫红色为阳性。

研究设计和统计 为配对设计,从事胃镜、病理、细菌、尿素酶试液及试纸检查的医务人员彼此单独工作,不交换信息。幽弯菌阳性的诊断按国际惯用法,以病理切片和/或细菌培养阳性为“金标准”来确定尿素酶试纸的准确性。

结 果

在159例中经病理和/或细菌学检查鉴定为幽弯菌阳性99例、阴性60例,与尿素酶试纸结果对照,见附表。

附表 尿素酶试纸检测幽弯菌的准确性

	病理/细菌(+)	病理/细菌(-)	合计
试纸(+)	79	0	79
试纸(-)	20	60	80
	99	60	159

尿素酶试纸检测幽弯菌的敏感性为80%,特异性100%,阳性预测值100%,阴性预测值75%,准确性87%。有3例试纸法假阴性的病例试液法呈阳性,其余结果相同,故尿素酶试液敏感性为83%,特异性为100%。试纸法阳性结果显示迅速,都在15分钟内出现,延长阳性率没有增加,而试液延长观察时间阳性率可有增加。试纸于常温下放置保存半年不失效,和新配试纸对照符合率100%。

讨 论

我们研制的幽门弯曲菌尿素酶法快速诊断试纸,15分钟诊断敏感性80%,特异性100%,达到国内外尿素酶试液的水平^[7~10],而且试纸更易保存和运输,有利于临床推广。虽然延长观察时间到24小时试液法敏感性可增加到90%以上^[7~10],但这在临床上不实用,因不能随

胃镜报告发结果,故临床实践中多采用快速诊断方法,我们研制的试纸正符合这种要求。

在研制中我们曾试用不同缓冲能力的配方,发现有较高缓冲能力的试纸无假阳性,更为适合使用。产生假阴性的原因是幽弯菌数量少,全部假阴性病例幽弯菌密度在病理切片高倍镜下1~8个菌范围内,而感染较重的(高倍镜8个菌以上)无一漏诊。

试纸法突出的优点是保存运输比试液更方便,因为尿素在试液中容易分解使药盒失效,而风干的试纸没有这一缺点,只要密封得当,我们已证明至少半年不失效,试纸体积小,可以通过普通邮件邮寄,方便于普及到基层医院。

参 考 文 献

- [1] Warren JR, Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983;1:1273.
- [2] Graham DY, Klein PD. *Campylobacter pyloridis*: the past, present and speculation about the future. *Am J Gastroenterol* 1987;82(4):283.
- [3] Yardley JH, Paul G. *Campylobacter pylori*: a new recognized infectious agent in the gastrointestinal tract. *Am J Surg Pathol* 1988;12(suppl 1):89.
- [4] Li Yuyuan, et al. The prevalence of *Campylobacter pylori* in P.R. China. 悉尼:第九届世界胃肠病学术会议资料 1990年:FP 567.
- [5] Schnell GA, Schubert TT. Usefulness of culture, histology and urease testing in the detection of *Campylobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1989;84(2):133.
- [6] Goodwin CS, et al. Evaluation of cultural techniques for isolating *Campylobacter pyloridis* from endoscopic biopsies of gastric mucosa. *J Clin Pathol* 1985;38(10):1127.
- [7] Hazell SL, et al. *Campylobacter pylori*-

- dis gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. Am J Gastroenterol 1987;82(4): 292.
- [8] Marshall BJ, et al. Rapid urease test in the management of Campylobacter pyloridis associated gastritis. Am J Gastroenterol 1987;82(3):200.
- [9] McNulty CAM, Wise R. Rapid diagnosis of Campylobacter pyloridis gastritis. Lancet 1986;I:387.
- [10] 杨海涛, 等. 快速尿素酶试验与细菌培养及组织学检查对诊断幽门弯曲菌感染的比较研究. 解放军医学杂志 1988;13(6):442.

UREASE TEST PAPER FOR THE DETECTION OF CAMPYLOBACTER PYLORI COLONIZATION IN THE STOMACH

Li Yuyuan (李瑜元)

Du Guoguang Lin Saizhen Huang Jinhua Wu Huisheng
Cheng Shufang Huang Biqiang

(First Municipal People's Hospital of Guangzhou)

Stuart L. Hazell

(University of New South Wales, Australia)

The presence of Campylobacter pylori (CP) in the stomach associates with some common upper gastrointestinal diseases. Rapid urease test for CP from biopsy specimens has been considered to be a useful and practicable technique for the detection of CP in patients undergoing endoscopy. The conventional reagents for the test have been in forms of broth or gel, which are of inconvenience in preservation and transportation. We have developed urease test paper, which can be preserved in room temperature for more than 6 months. In a matched study in 159 consecutive patients undergoing routine upper endoscopy, the sensitivity and specificity of the rapid test paper in 15 mins observation were 80% and 100% respectively in comparison to gold standards histologic and/or micro-biologic techniques for the detection of CP. These sensitivity and specificity have reached the levels of rapid test broth and gel. The development of rapid urease test paper will put forward to spread of CP study in clinical practice.

Key words Campylobacter pylori Urease test Peptic ulcer Gastritis