

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.05.025

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2016.05.025>

幽门螺旋杆菌感染检测：快速尿酶法(RUT)和银染法(W-S)的比较

庞钧译, 吴焕文, 周良锐, 梁智勇

(中国医学科学院北京协和医院病理科, 北京 100032)

[摘要] 目的：快速尿酶法(rapid urease test, RUT)是一种快速、简便的幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)检测方法, 将其与病理诊断中传统的银染法(W-S)进行比较, 通过对比二者的阳性率, 以传统银染法(W-S)的阳性率为基准, 判断快速尿酶法(RUT)是否能在临床诊断中发挥更好的作用, 使Hp感染患者能够得到及时的确诊和治疗。方法：选取2012年8月至2013年8月期间, 未使用过抗生素、质子泵抑制剂、H₂受体阻滞剂等可能影响Hp检测结果药物的患者164例, 同步完成快速尿酶法(RUT)和银染法(W-S)检测, 对比快速尿酶法(RUT)和银染法(W-S)的阳性率。结果：快速尿酶法(RUT)的阳性率(35.37%)略高于银染法(W-S)的阳性率(32.32%)。结论：快速尿酶法(RUT)操作便捷, 但容易受到诸多不稳定因素的影响, 更适合Hp感染的初筛。银染法(W-S)操作相对复杂, 但病理诊断结果具有更高的准确性, 更适合作为Hp感染最终的确诊手段。

[关键词] 幽门螺旋杆菌; 快速尿酶法(RUT); 银染法(W-S); 病理

Comparison between rapid urease test and W-S silver staining in detection for *Helicobacter pylori* infection in stomach

PANG Junyi, WU Huanwen, ZHOU Liangrui, LIANG Zhiyong

(Department of Pathology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100032, China)

Abstract **Objective:** Rapid urease test (RUT) is a rapid and simple method to detect *Helicobacter pylori* (Hp), we compared the positive rate of Hp by this method with traditional W-S silver staining method. Based on the positive rate of Hp by W-S silver staining, the clinical efficacy of rapid urease test will be estimated. **Methods:** A total of 164 patients without treatment by drugs which might influence Hp detection such as antibiotics, proton pump inhibitor and H₂ receptor antagonist etc. from August 2012 to August 2013 were chosen. Rapid urease test and W-S silver staining were tested simultaneously on each patient; positive rates of Hp by two methods were compared. **Results:** The positive rate of Hp by rapid urease test (35.37%) is slightly higher than W-S silver staining (32.32%). **Conclusion:** Rapid urease test is convenient to operate, but can be easily influenced by many unstable factors, so

收稿日期 (Date of reception): 2016-03-31

通信作者 (Corresponding author): 梁智勇, Email: liangzhiyong1220@yahoo.com

it is more suitable for preliminary screening of Hp. W-S silver staining is relatively complicated to operate, but has a higher accuracy of detection of Hp, so it is more suitable as a final diagnosis method of Hp infection.

Keywords Helicobacter pylori (Hp); rapid urease test (RUT); W-S silver staining (W-S); pathology

在人体内, 幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)主要存在于胃黏膜内黏液下层, 在光镜下呈现S形、U形或弧形。目前Hp感染的检测有侵入性和非侵入性两种方式。现就侵入性检测方式中的快速尿酶法(rapid urease test, RUT)和银染法(W-S)进行比较, 分析快速尿酶法(RUT)的可靠性, 探讨二者在临床诊断中各自的特点。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病例选择

选择2012年8月至2013年8月期间在本院就诊, 未使用过抗生素、质子泵抑制剂、H2受体阻滞剂等可能影响Hp检测结果的164例胃镜标本, 其中男性90例, 女性74例, 年龄17~82岁, 平均年龄53岁。所用银染法(W-S)试剂来自北京益利精细化学品有限公司, 快速尿酶法(RUT)试剂来自广州贝思奇诊断试剂有限公司提供。

1.1.2 试剂配制

将醋酸缓冲液(pH3.6)加温至40℃左右, 加入明胶, 置于37℃温箱内慢慢溶解, 制成5%的明胶液。将5%的明胶液置于水浴中加温, 加入对苯二酚液, 充分混合, 制成明胶-对二苯酚液后, 置于56℃水浴箱中。在“染色步骤”第4步操作开始之前5 min, 将用于显影的明胶-对二苯酚液和2%硝酸银液混合液充分混合, 置于56℃水浴箱中保温待用。

1.2 方法

1.1.2 快速尿酶法(RUT)

用之前30 min将所用试剂置于室温下。胃镜下去胃黏膜标本1块, 撕开胶纸暴露出琼脂, 用竹签将标本插入凝胶中, 重新粘好胶纸。1~2 min后, 如试剂变成红色即为Hp阳性; 如不变色或仅黏膜周围呈橙色, 则需等待30 min后继续观察, 如颜色转变为红色, 可判定为Hp阳性, 颜色无变化即为阴性。

1.2.2 银染法(W-S)

染色程序:

1)将组织块固定于10%中性甲醛液中, 常规脱

水、石蜡包埋。

2)组织蜡块切片、脱蜡至水。

3)用醋酸缓冲液冲洗2次, 每次冲洗时间为10 s。

4)将切片置入1%硝酸银液染缸内, 于56℃水浴箱中浸染1 h。

5)取出切片, 不用水洗, 平放于染色架上, 立即滴加显影液, 显影3 min, 此时肉眼观测切片应呈现金黄色或黄棕色为佳。

6)倾去显影液, 于56℃水中浸洗5 min。

7)蒸馏水冲洗。

8)常规脱水。

9)透明、透明树胶封固。

1.3 统计学处理

使用SPSS 20.0进行统计学分析。使用Mc-Nemar检验, 对同一患者的快速尿酶法(RUT)结果和银染法(W-S)结果进行分析。 $P < 0.05$ (双侧)为具有统计学意义。

2 结果

2.1 全部病例的阳性检出率

根据2种检测结果显示, 在164例患者中, Hp感染80例, 未感染84例, 检出率48.78%。2种检测结果相同的115例, 结果不相同的49例。

2.2 RUT与W-S检查结果比较

在银染法(W-S)阳性患者中, 快速尿酶法(RUT)阳性者31例, 阴性22例; 银染法(W-S)阴性患者中, 快速尿酶法(RUT)阴性者84例, 阳性27例。 P 值为0.568, 大于0.05, 无统计学意义, 见表1。

表1 RUT与W-S检查结果比较

Table 1 Comparison between RUT and W-S test results

快速尿酶法(RUT)	银染法(W-S)		合计
	阳性	阴性	
阳性	31	27	58
阴性	22	84	106
合计	53	111	164

3 讨论

1982年, 澳大利亚学者Warren和Marshall从人体胃黏膜中分离出了幽门螺旋杆菌(Hp), 并证实幽门螺旋杆菌与胃十二指肠的疾病有关, 引发了胃十二指肠疾病防治策略的变革。幽门螺旋杆菌(Hp)一种革兰阴性菌, 它能引起慢性和急性胃炎, 与十二指肠溃疡密切相关, 是引起胃癌的相关危险因素, WHO已将Hp列为胃癌的第一类致癌因子^[1]。胃癌是一种严重危害人类健康的常见恶性肿瘤。胃癌发生是一个多病因、多阶段的过程, 而Hp感染主要作用于癌变的初始阶段, 起到启动因子的作用。曾有研究^[2-5]显示, Hp感染导致胃炎发生, 并进一步促进胃黏膜炎症, 使萎缩与肠化生逐渐发生并进行性加重, 进而产生胃癌。

随着人们对Hp感染的认识加深, Hp感染与胃部以外疾病关联也逐渐引起广泛关注。肝性脑病是肝硬化的并发症, 其发病机制中, 氨中度学说占有很重要的地位。Hp含有大量的尿素酶, 能够迅速的分解尿素, 并产生氨^[6]。而且, 在现有可行的细菌中, Hp产尿素酶的量最大。如果胃中感染了大量的Hp, 其产生的氨的量足以影响血氨浓度, 从而导致肝性脑病的发生^[7]。所以Hp感染的确诊, 对一系列疾病的治疗和预防, 起着至关重要的作用。

快速尿酶法(RUT)检测, 试剂价格低、反应迅速, 因而得到广泛的应用, 也是内镜检查的首选。快速尿酶法(RUT)检测反应强度取决于活检标本内的细菌浓度, 取材时容易受到Hp在胃部“灶性分布”的影响^[8], 使其敏感度及特异度降低。Hp可以产生尿素酶, 尿素酶对Hp的定值也是必需的^[9]。尿素酶有内、外尿素酶两种同工酶, 其中, 外尿素酶是细胞溶解的主要因子, 内尿素酶主要维持pH值在2.5~6.5范围内时Hp的代谢活性。在低pH环境中, 内尿素酶是维持Hp周围pH稳定的关键因子。pH上升至4.0~5.5, 体外实验发现Hp胞质周围pH也相应上升, 内尿素酶活力降低^[10]。所以, 当遇到患者患有严重萎缩性胃炎、胃酸缺乏等问题时, 会引起胃中pH明显上升, 从而导致RUT假阳性。尿素酶非Hp独有, 现有已知的菌种中, 有20种以上常见菌种可以产生尿素酶^[11]。因而也容易产生RUT的假阳性现象。所以, RUT并不适合独立判断是否存在Hp感染的依据, 需要结合其他检测项目进行筛查^[12], 避免假阳性的存在。

病理组织学银染法(W-S)检测胃Hp感染的诊断价值已受到广泛肯定。在实际操作中, 对病理

诊断正确性的影响因素有很多种, 例如活检组织少、小, 取到的主要是溃疡边缘的炎性坏死组织, 制片的质量不佳, 病理诊断医师经验不足等原因, 均会导致诊断结果的偏差、失真。但通过多点活检能显著提高诊断的准确性。对伴有严重胃黏膜萎缩的病患, 可以结合胃窦、角切迹以及胃体3个地方的活检标本, 进行病理诊断Hp感染的准确率接近100%。

与W-S比较, RUT方法更加简便易行。此外, W-S检测在很多医院并没有常规开展。因而本研究的主要意义在于探讨RUT检测的可靠性。与既往研究比较, 本实验样本量较大, 集中探讨了两种临床使用较普遍的侵入性HP检测方式检测结果之间的一致性。然而, 本研究缺乏与非侵入式检测手段(尿素呼气试验等)的比较, 今后我们将进一步收集相关资料、扩大样本量进行多种方法的综合比较。

参考文献

1. Yu FJ, Wu DC, Kuo CH, et al. Diagnosis of Helicobacter pylori infection by stool antigen test in southern Taiwan[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2001, 17(7): 344-350.
2. 周丽雅, 沈祖尧, 林三仁, 等. 根除幽门螺杆菌对胃粘膜炎症变化的人群随访研究[J]. 中华内科杂志, 2003, 42(3): 162-164. ZHOU Liya, SHEN Zuyao, LIN Sanren, et al. Eradication of Helicobacter pylori on gastric mucosal inflammation of the change crowd follow-up research[J]. Chinese Journal of Internal Medicine, 2003, 42(3): 162-164.
3. Zhou L, Sung JJ, Lin S, et al. A five-year follow-up study on the pathological changes of gastric mucosa after H. pylori eradication[J]. Chin Med J (Engl), 2003, 116(1): 11-14.
4. Sung JJ, Lin SR, Ching JY, et al. Atrophy and intestinal metaplasia one year after cure of H. pylori infection: a prospective, randomized study[J]. Gastroenterology, 2000, 119(1): 7-14.
5. Sung JY, Lin SR, Leung WK, et al. Does Eradication of H. pylori prevent deterioration of gastric atrophy and intestinal metaplasia? A 5-year follow-up[J]. Gastroenterology, 2002, 122(Supplement 4): A-170, S1142.
6. Patel SK, Pratap CB, Jain AK, et al. Diagnosis of Helicobacter pylori: what should be the gold standard?[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(36): 12847-12859.
7. 张晓群, 孙聪. 幽门螺杆菌与肝硬化肝性脑病关系的研究进展[J]. 临床消化病杂志, 2005, 17(2): 94-95. ZHANG Xiaoqun, SUN Cong. The relationship between Helicobacter

- pylori infection and hepatic encephalopathy clinical study progress of relationship between[J]. Journal of digestive diseases, 2005, 17(2): 94-95.
8. 董玲, 孙剑勇, 王吉耀. 幽门螺杆菌感染不同检测方法的评价[J]. 中华消化杂志, 2004, 24(4): 235-236.
DONG Ling, SUN Jianyong, WANG Jiyao. Evaluation of different detection methods of *Helicobacter pylori* infection[J]. Chinese Journal of Consumer Chemistry, 2004, 24(4): 235-236.
 9. Tsuda M, Karita M, Morshed MG, et al. A urease-negative mutant of *Helicobacter pylori* constructed by allelic exchange mutagenesis lacks the ability to colonize the nude mouse stomach[J]. Infect Immun, 1994, 62(8): 3586-3589.
 10. Rektorschek M, Weeks D, Sachs G, et al. Influence of pH on metabolism and urease activity of *Helicobacter pylori*[J]. Gastroenterology, 1998, 115(3): 628-641.
 11. 史肖云, 张振华. 分离培养诊断Hp感染的价值[J]. 世界消化病杂志, 2001, 9(5): 563-565.
SHI Xiaoyun, ZHANG Zhenhua. Diagnosis of Hp infection in isolation and culture[J]. World Journal of Digestive Diseases, 2001, 9(5): 563-565.
 12. Uotani T, Graham DY. Diagnosis of *Helicobacter pylori* using the rapid urease test. Ann Transl Med, 2015, 3(1): 9.

本文引用: 庞钧译, 吴焕文, 周良锐, 梁智勇. 幽门螺旋杆菌感染检测: 快速尿素酶法(RUT)和银染法(W-S)的比较[J]. 临床与病理杂志, 2016, 36(5): 661-664. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.05.025

Cite this article as: PANG Junyi, WU Huanwen, ZHOU Liangrui, LIANG Zhiyong. Comparison between rapid urease test and W-S silver staining in detection for *Helicobacter pylori* infection in stomach[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2016, 36(5): 661-664. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.05.025