DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.04.009

胶囊微量法^{14}C-尿素呼气试验诊断幽门螺杆菌感染*

陈洁平** 徐采朴 程绍钧*** 徐启旺**** 柳凤轩***** 王振华 房殿春 高晋华 (第三军医大学附属西南医院消化内科) 重庆,630038

提 要 目的: 建立胶囊微量法^{14}C-尿素呼气试验(^{14}C-UBT)用于诊断幽门螺杆菌(Hp)感染。方法: 采用1μCi^{14}C-尿素,胶囊给药,在收集5, 10, 20, 25, 30, 45, 60 min呼气样本的基础上建立了以$^{14}CO_2$呼出高峰期为25 min,直接用16.67 mBq/mmol表示的检测方法,结果与Hp细菌学培养及病理组织学比较。结果: 共检测137例病人,Hp阳性83例,阴性54例。以Hp阴性第25分钟$^{14}CO_2$放射量均值± 3s作为判断Hp感染的临界值(280dpm),结果显示敏感性97.06%,特异性95.12%,阳性预检值97.06%,阴性预检值95.12%。结论: 胶囊微量法^{14}C-UBT具有无创、安全、快速、准确、简便、经济等优点,可以代替传统的5μCi~10μCi大剂量^{14}C-UBT。

关键词 幽门螺杆菌;^{14}C-尿素呼气试验;慢性胃炎;消化性溃疡
中图法分类号 R573.6

近年来的研究已经表明幽门螺杆菌(Hp)感染与慢性胃炎消化性溃疡及胃癌的发生有关[1~3]。Hp感染的研究已经成为热点。目前诊断Hp感染多采用内镜胃粘膜活检,既有创,又费时,且有局限性。自Graham首次报道使用^{13}C-尿素呼气试验检测Hp感染以来,Marshall又建立了^{14}C-尿素呼气试验(^{14}C-UBP),两者均属非侵入性Hp感染检测法。前者设备和费用较昂贵,而后者可靠、快速、且经济,在国外已广泛应用。我们创用胶囊微量法对传统^{14}C-UBT加以改进及完善,不仅与传统的^{14}C-UBT一样可靠,而且更加安全、经济,并减少了环境污染。经137例病人检测,结果令人满意。

1 材料与方法

1.1 病例选择

所有病例均为因上消化道症状而接受胃镜检查的门诊病人,共137例(男81例,女56例)。年龄17~60岁,平均34.5岁。慢性浅表性胃炎50例,慢性萎缩性胃炎27例。胃溃疡21例,十二指肠溃疡39例。病人分为两个阶段: 预试验28例,正式测定100例。凡有胃外科手术史,近期服用过抗生素或铋剂、肿瘤、消化道出血、幽门梗阻、肾功能不全,孕妇及儿童等不列入本研究。

1.2 同位素及标本读数的制备

在含^{14}C尿素(Sigma, USA) 1000微居里(μCi)安瓿中加入1 ml无菌水,溶解后取10μl溶液置于20 ml小瓶中,加入标记尿素100 mg及5 ml无菌水混均,每次用0.5 ml(含^{14}C-尿素1μCi,非标记尿素10 mg),将配制的溶液置于-4℃冰箱中备用。

呼气收集方法: 嘱受试者通过一长约20 cm带滴球的一次性输液管向加有1 ml氢氧化海胺的甲醇液(含氢氧化海胺0.5 mmol/ml),1 ml无水乙醇,1%酚酞1滴的闪烁瓶内液体吹气。当紫红色溶液正好变为无色时,即提示CO_2饱和。

加入5 ml闪烁液,每份标本用LKB1217型液闪计数仪计数测定,经碎灭校正后获得dpm值,减去本底后以各时相点两瓶的平均值作为$^{14}CO_2$的放射性活度,以16.67 mBq/mmol CO_2表示。

1.3 方法

137例病人均在行胃镜检查时钳取幽门口周围5cm内胃窦粘膜组织3块,分别作Hp细菌培养,压印片Giemsa染色镜检,常规病理切片HE染色及改良W-S银染色确定Hp感染情况(有关方法已在另文发表)。Hp阳性为细菌培养或W-S银染色或Giemsa染色发现Hp者。Hp阴性为上述检查均不能发现Hp者。

参照Marshall的方法,在2.5μCi^{14}C-尿素(1μCi=37 kBq),无营养性试餐方法[4]的基础上进一步完善、改进、首创胶囊微量法。为避免口腔尿素酶干扰及减少同位素放射量,将^{14}C-尿素从一般剂量10μCi~5μCi,以及我们前一阶段用量2.5μCi再减少至1μCi实验通过盲法处理。预试验28例,将胃镜检查一周内已确定Hp阳性及阴性者作为试验对象,确定$^{14}CO_2$呼出高峰期及临界值。禁食12 h,收集呼气2瓶作为本底(即0时)。取^{14}C-尿素溶液0.05 ml(含1μCi, 37kBq^{14}C-尿素,10 mg非标记尿素),迅速注于零号空胶囊(明胶)中,令病人立即用

* 全军"八五"攻关项目
** 陈洁平,女,38岁,讲师,主治医师,博士
*** 医学检验系核医学教研室 **** 医学检验系临床微生物教研室 ***** 西南医院病理科

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

20ml温开水吞服,收集 5、10、15、20、30、45、60 min等时相点的呼气各 2瓶。正式测定 109例,在胃镜检查一周内进行。仅收集 0、10、25 分钟呼气标本各 2瓶进行检测。结果与金标准对照(Hp培养和/或 W-S染色或 Giemsa染色检查)。

所得数据计数资料用 χ检验,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,使用医用统计程序包(第三军医大学数学教研室编)进行差异显著性检验。

2 结果

预试验 28例,经金标准确定 Hp阳性 15例,阴性 13例。用 13例 Hp阴性病人呼气试验确定正常范围。Hp阳性 $^{14}CO_2$活性高峰期在 25 min,故以 Hp阴性第25分钟的 $^{14}CO_2$放射量 $\bar{x} \pm s$作为判断呼气阳性的临界值(280 dpm),见表1。本试验特异性即以此标准在正常范围同 Hp阴性者的百分比。用 Hp阳性组确定"异常"百分比(高于正常范围)即敏感性。于各时相点测得的本试验敏感性、特异性等见表2。

表1 ^{14}C-UBT预试验中 ^{14}C排出情况

Tab 1 The ^{14}C excretion in ^{14}C-UBT of preliminary tests

Group	Time(min)	Mean(dpm)	SD(dpm)	Cut-off value (Mean+3SD)
Hp⁻ n=13	5	10	20	70
	10	16	35	121
	15	30	42	156
	20	24	38	138
	25	42	77	273
	30	37	57	208
	45	15	52	171
	60	24	80	264
Hp⁺ n=15	5	1339	1151	
	10	2500	1988	
	15	2703	2451	
	20	2850	2557	
	25	3189	2411	
	30	2100	1534	
	45	1102	1152	
	60	820	794	

表2 5~60 min ^{14}C-UBT几项重要指标比较(%)

Tab 2 Comparison of the parameters determined between 5 and 60 minutes after ingestion of ^{14}C-urea(%)

Time(min)	5	10	15	20	25	30	45	60
Positive predictive value	92.9	92.3	91.7	91.7	93.3	92.3	90.9	90.9
Negative predictive value	76.5	75.0	70.6	75.0	92.3	75.0	66.7	66.7
Sensitivity	76.5	75.0	68.8	73.3	93.3	75.0	62.5	62.5
Specificity	92.9	92.3	92.3	92.3	92.3	92.3	92.3	92.3
Efficiency	83.9	82.9	79.3	82.1	92.9	82.8	75.9	75.9

Hp感染者 $^{14}CO_2$排泄高峰在同位素吸收后 25 min,然后呈线样下降,Hp阴性者 $^{14}CO_2$排泄曲线在基线附近。在 25 min时相点 Hp阳性和 Hp阴性病人相差 76倍(3189dpm与 42dpm)。见图1。

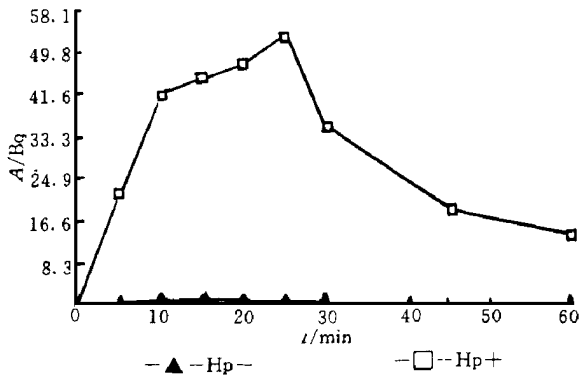


图1 ^{14}C-UBT预试验中 $^{14}CO_2$排出曲线

Fig 1 $^{14}CO_2$ excretion curves for the Hp⁺ and Hp⁻ group of preliminary tests at 5~60 min

正式测定 109例,呼气试验检测结果见表3,以25min dpm值大于280作为呼气试验阳性标准。将结果与金标准细菌学及/或病理组织学 Hp检查结果比较,敏感性 97.06%,特异性 96.12%,阳性预检值 95.12%,阴性预检值 97.06%。

表3 ^{14}C-UBT正式试验中 ^{14}C排出情况

Tab 3 The ^{14}C excretion in ^{14}C-UBT of main tests

Group	Time(min)	Mean(dpm)	SD(dpm)	Range(dpm)
Hp⁻ n=41	0	275	92	160~625
	10	268	82	196~690
	25	285	98	186~677
Hp⁺ n=68	0	254	47	181~435
	10	2112	1473	337~6336
	25	2038	1339	603~7421

胶囊微量法 ^{14}C-UBT与传统 5μCi和 2.5μCi[4]结果比较敏感性、特异性、阳性预检值等差别均不显著($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 胶囊微量法的可靠性

^{14}C-UBT创立以来,以其可靠、无创及准确已被广泛接受[5,7,10]。Lin等[8]报告敏感性和特异性分别为96%和100%。较之组织学的96%和91%,血清学的96%和88%为高。鉴于目前采用的传统 ^{14}C-UBT检测方法因 ^{14}C-尿素用量大,价格偏贵,我们在原有 2.5μCi ^{14}C-UBT基础上建立了胶囊微量法 ^{14}C-UBT,使之更为安全、快速、准确及经济。该方法经 137例病人检

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

测,敏感性 97.06%,特异性 95.12%,阳性预检值 97.06%,阴性预检值 95.12%。该方法与传统 ^{14}C-UBT 比较,结果同样可靠,而同位素用量更低。

3.2　优点

3.2.1　安全性　　Graham[11]认为用较大底物量可以避免底物在与 Hp反应前即排空或被口腔尿素酶耗竭。我们采用的胶囊微量法用 1μCi ^{14}C-尿素得到的 Hp阳性病人 dpm值 3189(Hp阴性为 42dpm),显示底物与 Hp能充分反应,以达到区别阳性和阴性的目的。现有的报道资料显示并未因 ^{14}C尿素用量大而解决尿素酶定量问题,反而增加病人射线内照射量,造成环境污染,浪费试剂。Marshall等计算了 5μci ^{14}C-UBT的放射量,最初 5 d呼出气中 ^{14}C占 75%,25%排泄半衰期为 10 d~20 d,3%进入骨髓其排泄衰期为 40 d用 ^{14}C-尿素 5μCi行 100次呼气试验所受的幅射量少于一次上胃肠钡餐检查的量。Munster等的报告提示 ^{14}C-尿素吸收后在体内长期贮留量是低的。我们认为减少 ^{14}C-尿素用量不仅能减少病人同位素负荷量,而且可以减少病人排泄物及 ^{14}C-尿素容器造成的环境污染,胶囊微量法采用的 1μCi(KBp)幅射量仅为一次上胃肠钡餐的 1/500,相当于在自然环境中 24h的暴露量,其安全性显而易见。

3.2.2　经济价值　　目前国内用于 ^{14}C-UBT的 ^{14}C-尿素及氢氧化海胺均为进口,费用昂贵。微量胶囊法费用仅为传统方法的 1/5,尤其适合我国国情。

3.2.3　避免口腔尿素酶干扰　　Marshall[5]已经证明口腔细菌产生的尿素酶可分解 ^{14}C-尿素产生 $^{14}CO_2$污染呼出气体。但这种情况仅发生在同位素咽下后最初的 10 min内。当通过食道插管直接向食道中滴入 ^{14}C-尿素时,同位素排泄没有立刻上升,提示这种污染是直接的,不是 $^{14}CO_2$通过肺呼出所致。Hp阴性者 ^{14}C-尿素的分解仅发生于口腔,^{14}C-尿素吞入后形成一个与用 ^{14}C-尿素漱口相同的同位素排泄曲线。通过胶囊给药避免了 ^{14}C-尿素与口腔尿素酶的接触。预试验结果显示 25 min $^{14}CO_2$排泄　Hp阳性 3189 dpm,Hp阴性 42 dpm,两者间差异相当显著($P<0.001$)。由于避免了口腔尿素酶的干扰,不仅增加了试验的准确性,还可缩短试验时间。预试验中显示 $^{14}CO_2$排泄量在 10 min点 Hp阳性为 2500 dpm,Hp阴性为 16 dpm,正式测定 10 分钟点 Hp阳性 2112 dmp,Hp阴性 268 dpm,在 10 min处　Hp阳性与阴性差别相当显著。由于无口腔尿素酶干扰今后可偿试以 10 min点检测　Hp感染。

胶囊微量法 ^{14}C-UBT诊断　Hp感染不仅准确、安全、快速、简便、经济,而且减少了放射暴露量及环境污染,值得进一步推广应用。

参考文献

1 Sipponen P, Hyvarinen H. Role of Helicobacter pylcri in the pathogenesis of gastritis, peptic ulcer and cancer. Scand J Gastroenterol, 1993, 28(suppl 196): 3

2 Franics M, Hereve L. Helicobacter pylori and deodenal ulcer, ulcer, evidence suggesting causation. Dig Dis and Sci, 1992, 37(5): 769

3 Nomura M, Stemmermsnn G N. Helicobacter pylori and gastric cancer. J Gastroenterol Hepatol, 1997, 12(1): 1174

4 Xu Cai-Pu, Xu Hui, Cheng shao-Juing *et al*. A study on the ^{14}C-urea breath teSt for the diagnosis of Helicobacter pylori infection. Chin J Intern Med, 1995, 34(4): 1

5 Marshall B J, Plandey M W, Hoffman S R *et al*. A 20-minute breath test for Helicobacter pylori. Am J Gastroenterol, 1991, 86(4): 438

6 Lin S K, Lambert J R, Schemberi M *et al*. A comparison of diagnostic test to determine Helicobacter pylori infection. J Gastroenterol Hepatol, 1992, 7(2): 203

7 Atherton J C, Spiller R C. The ured breath test for Helicobacter pylori. Gut, 1994, 35(5): 723

8 Ormand J E, Talley N J, Carpenter H A *et al*. ^{14}C-urea breath test for the diagnosis of Helicobacter pylori. Dig Dis Sci, 1990, 35(6): 879

9 Veldhuyzen van Zanten S J, Tytgat K M, Hollingsworth J *et al*. ^{14}C-urea breath test for the detection of Helicobacter pylori. Am J Gastroenterol, 1990, 85(4): 399

10 Gob K L, Parasakthi N, Ong K K. Field testing of serology and carbon-14 urea breath test in the diagnosis of Helico bacter pylori infection. Acta Gastroenterol Belg, 1993; 56(1): 78

11 Grdbam D V, kelein P O. What you should know about the metbods, problems, interpretations and uses of urea breath. Am J Gastroenterol, 1991, 86(9): 1118-1122

(收稿: 1996-05-11;修回: 1997-01-10)

(编辑　汪勤俭)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

Microdose capsule-based ^{14}C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection

Chen Jiepin, Xu Caipu, Cheng Saojun*, Xu Qiwang**, Liu Fengxuan***, Wang Zhenhua, Fang Dianchun, Gao Jinhua (Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract Objective: To develop a capsulated microdose ^{14}C-urea breath test (^{14}C-UBT) for the detection of Helicobacter pylori (Hp) infection. Methods: A single dose of 3.7×10^4 h Bq of ^{14}C-urea in a capsule was given to the patient. Samples of exhaled gas were collected at the 5th, 10th, 20th, 30th, 45th and 60th minute after the administration and the peak value of exhaled $^{14}CO_2$ was found in the samples collected at the 25th minute. This peak value was taken as the measuring point and directly expressed as Bq/mmol CO_2 to develop a new detecting method. The results were compared with those of Hp cultured and Pathological examinations. Results: 137 cases (Hp$^+$ 83, Hp$^-$ 54) were detected. The samples collected on the 25th minute showed a sensitivity of 97.06%, specificity of 95.12%, positive predictive value of 97.06% and negative predictive value of 95.12% respectively when the mean value of $^{14}CO_2$ in Hp negative subject ± 3s on the 25th minute was taken as the critical value. Conclution: The capsule-based microdose ^{14}C-UBT may replace the conventional ^{14}C-UBT of using a larger dose of (1.83~3.7) ^{14}C as it is non-invasive, safe, rapid, accurate, simple and economic.

Key words ^{14}C-urea breath test; Helicobacter pylori; Chronic gastritis; Peptic ulcer

* Department of Nuclear Medicine; ** Department of Microbiology; *** Department of Pathology

烧冲复合伤早期肺微血管内皮粘附特性变化及 HSD作用的实验研究*

Experimental studies of the early changes in pulmonary microvascular endothelial adhesive feature and effect of hypertonic saline dextran after burn-blast combined injury

金榕兵** 朱佩芳 王正国 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第四研究室) 重庆, 630042

多形核白细胞 (Polymorphonuclear neutrophil, PMN)在机体防御和免疫监视中起重要作用,但当机体受到创伤、感染及休克等刺激面发生过度炎症反应时,可使 PMN过度活化面释放弹性蛋白酶、胶原蛋白酶、氧自由基等,对脏器的实质细胞和基质产生损伤作用。PMN在肺微血管和组织间隙聚集,是炎症、创伤、感染及休克地较为常见的现象之一,消耗 PMN可对肺组织损伤起到保护作用,可见 PMN在肺损伤发生中起重要作用。本室以往的研究表明:烧冲复合伤时,PMN在肺内聚集及其功能变化与肺损伤的发生有关。但烧伤复合时 PMN在肺组织内聚集的机理目前尚不清楚。

调控白细胞的粘附和迁移至细胞外间质是血管内皮细胞的主要功能之一,主要是通过调控内皮细胞表面细胞粘附分子 (Cell adhesion molecules, CAMs)的表达来实现的。CAMs由细胞产生、存在于细胞表面,以配体-受体相结合的形式介导细胞与细胞间的粘附及作用,是白细胞粘附于内皮细胞的物质基础。复合创伤 CAMs的变化规律及作用如何,目前尚未见报道。

本课题以大鼠烧冲复合伤为模型,采用原位杂交、免疫组化、流式细胞、细胞体外培养等技术,对伤后肺组织的 E选择素 (E-selectin)、血管细胞粘附分子 1 (Intercelluar adhesion molecule-1, VCAM-1)、细胞间粘附分子 1(Intercelluar adesion molecule-1, icam-1)及 PMN表面的 CD11b在 PMN肺内聚集及肺组织损伤中的作用及其调控机制进行了研究,同时初步观

(下转 328页)

* 全军"九五"攻关项目

** 金榕兵,男,33岁,博士研究生

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net