

美蓝染色技术在胃镜活检切片组织幽门螺杆菌检查中的应用

刘小飞¹, 刘艳兰²

(1.泰和县人民医院病理科,江西 泰和 343700;

2.泰和县妇幼保健院妇产科,江西 泰和 343700)

摘要:目的 观察美蓝染色技术在胃镜活检切片组织中检查幽门螺杆菌(Hp)的临床应用价值。方法 选取2020年7月-12月在我院进行胃镜活检的50例患者为研究对象,均在胃镜下钳取胃黏膜组织分别进行快速尿素酶法(RUT)、美蓝染色技术检测,比较两组检测方法Hp检出率、敏感度、特异度以及染色效果。结果 RUT检测Hp阳性率为84.00%,低于美蓝染色检测96.00%,差异有统计学意义($P<0.05$);美蓝染色检测Hp敏感度、特异度均高于RUT检测,差异有统计学意义($P<0.05$);美蓝染色方法着色强度、细胞阳性率评分均高于RUT检测,差异有统计学意义($P<0.05$),但着色背景评分与RUT检测比较,差异无统计学意义($P>0.05$);2、5、10 min美蓝染色检测Hp阳性率均高于RUT检测($P<0.05$),但20 min时,两者比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 美蓝染色技术在胃镜活检切片组织Hp检测中具有重要的作用,可提高阳性检出率,且检出敏感度、特异度均高于RUT检测。同时染色效果显著,利于镜下观察,且受显色反应时间影响相对较小,可一定程度提高Hp检出准确率,为临床早期治疗提供可靠的参考依据。

关键词:美蓝染色技术;胃镜活检;幽门螺杆菌;快速尿素酶法

中图分类号:R735.2

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2023.11.029

文章编号:1006-1959(2023)11-0142-04

Application of Methylene Blue Staining Technique in the Examination of Helicobacter Pylori in Endoscopic Biopsy Tissues

LIU Xiao-fei¹, LIU Yan-lan²

(1.Department of Pathology, Taihe County People's Hospital, Taihe 343700, Jiangxi, China;

2.Department of Obstetrics and Gynecology, Taihe County Maternal and Child Health Hospital, Taihe 343700, Jiangxi, China)

Abstract: **Objective** To observe the clinical application value of methylene blue staining technique in the examination of Helicobacter pylori (Hp) in endoscopic biopsy tissue. **Methods** A total of 50 patients who underwent gastroscopy biopsy in our hospital from July to December 2020 were selected as the research objects. Gastric mucosal tissues were taken under gastroscopy for rapid urease test (RUT) and methylene blue staining. The detection rate, sensitivity, specificity and staining effect of Hp were compared between the two groups. **Results** The positive rate of Hp detected by RUT was 84.00%, which was lower than 96.00% of methylene blue staining, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The sensitivity and specificity of Hp detection by methylene blue staining were higher than those of RUT detection, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The staining intensity and cell positive rate scores of methylene blue staining method were higher than those of RUT detection, and the differences were statistically significant ($P<0.05$), but the staining background score was compared with that of RUT detection with no significant difference ($P>0.05$). The positive rate of Hp detected by methylene blue staining at 2, 5 and 10 min was higher than that detected by RUT ($P<0.05$), but there was no significant difference between the two groups at 20 min ($P>0.05$). **Conclusion** The methylene blue staining technique plays an important role in the Hp detection of gastroscopy biopsy tissue, which can improve the positive detection rate, and the detection sensitivity and specificity are higher than those of RUT detection. At the same time, the staining effect is significant, which is conducive to microscopic observation, and is relatively less affected by the color reaction time. Meanwhile, it can improve the accuracy of Hp detection to a certain extent and provide a reliable reference for early clinical treatment.

Key words: Methylene blue staining technique; Endoscopic biopsy; Helicobacter pylori; Rapid urease test

幽门螺杆菌(Hp)与胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴组织流、胃癌等疾病的发生发展密切相关^[1]。Hp的检测及其根治有利于Hp相关疾病的管理、预

后改善^[2]。目前,临床Hp检测主要包括胃黏膜组织切片染色、快速尿素酶法(RUT)、Hp粪便抗原检测等,其中胃黏膜组织切片染色是基层医院常用Hp检测方法^[3]。但是胃黏膜组织切片检测方法较多,不同检测方法敏感度、特异性存在差异,如何科学合理选择是当前临床迫切需要解决的问题之一^[4]。RUT检测快速,但是费用高,在基层医院开展具有一定的局限性。美蓝染色检测技术具有操作简单、时间短等优

基金项目:吉安市科技项目(编号:吉市科计字[2022]6号序号241)

作者简介:刘小飞(1980.8-),男,江西吉安人,本科,主治医师,主要从事病理诊断工作

势^[5],但是关于美蓝染色技术在胃镜活检切片组织中检查 Hp 中的价值目前尚未完全明确^[6]。本研究结合 2020 年 7 月-12 月在我院进行胃镜活检的 50 例患者临床资料,于 RUT 对照研究,观察美蓝染色技术在胃镜活检切片组织中检查 Hp 的临床应用价值,旨在为临床提供敏感、特异的 Hp 检测方法提供一定的参考,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 7 月-12 月在泰和县人民医院进行胃镜活检的 50 例患者为研究对象,其中男 38 例,女 22 例;年龄 32~68 岁,平均年龄(48.25±4.10)岁;其中慢性浅表性胃炎 20 例,胃溃疡 21 例,胃癌 9 例。本研究经过纳入所有患者自愿参加本研究,并签署知情同意书。

1.2 纳入和排除标准 纳入标准:①均进行胃镜检查者;②无严重心肺功能、凝血功能障碍;③无麻醉药物过敏史^[7]。排除标准:①纳入前 1 个月服用抗生素者;②纳入前 2 周内使用非甾体消炎药、H₂受体阻滞剂、质子泵抑制剂者^[8];③资料不完善者。

1.3 方法 晨起空腹患者进行胃镜检查,并在检查过程中,在内镜下取病变处黏膜胃窦黏膜组织 3 块,其中 1 块使用快速尿素酶诊断试剂盒进行检测,其他 2 块制作石蜡切片使用美蓝染色技术检测^[9]。

1.3.1 RUT 检测 将黏膜组织加入含有酚红的 RUT 检测试剂(山东博迈达生物科技公司,批号:H20031102)中,于 10℃~30℃下静置 5 min 后采用目测法加衬白纸观察结果,组织周围酚红由黄色变为红色或更深至紫色则判定为 Hp 阳性,试剂未变色,即黄色为快速尿素酶试验阴性^[10]。

1.3.2 美蓝染色技术检测 ①将新鲜送检的组织用 10%福尔马林固定,常规脱水、透明、浸蜡、包埋,石蜡切片(4~5 μm),常规脱蜡至水;②用幽门螺旋杆菌染色液(珠海贝索生物技术有限公司,批号:H20131400036)染色 5~10 min,然后自来水冲洗 1 min,直接滤纸吸干或冷风干燥,二甲苯透明,中性

树胶封固;③经镜检观察细菌着色的颜色,胃幽门螺杆菌呈蓝色,红细胞呈绿色,背景为蓝色,则判定为 Hp 阳性,否则为阴性^[11]。

1.4 观察指标 比较两组检测方法 Hp 检出率、敏感度、特异度以及染色效果。

1.4.1 敏感度、特异度 灵敏度=真阳性/(真阳性+假阴性)×100%^[12,13];特异度=真阴性/(真阴性+假阳性)×100%^[14]。

1.4.2 染色切片结果判定 Hp(+):偶尔少数 Hp 或小于标本全长 1/3 处有 Hp;Hp(++) :标本全长至少 1/3 均有 Hp 分布或上皮表面有连续且稀疏的 Hp 存在;Hp(+++) :Hp 非常多,且成堆存在于上皮表面位置^[15]。

1.4.3 染色效果 ①着色强度:无着色 0 分,淡黄色 1 分,棕黄色 2 分,棕褐色 3 分;②着色背景:无背景为 0 分,有轻微背景为 1 分,有明显背景为 2 分;③细胞阳性率:阴性为 0 分,阳性细胞≤25%为 1 分,阳性细胞 26%~50%为 2 分,阳性细胞 51%~75%为 3 分,阳性细胞≥76%为 4 分^[16]。

1.5 统计学方法 采用统计软件包 SPSS 21.0 版本对本研究的数据进行处理,采用($\bar{x} \pm s$)表示符合正态分布的计量资料,组间比较采用 *t* 检验;计数资料采用 [*n*(%)]表示,组间比较采用 χ^2 检验;*P*<0.05 说明差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同检测方法 Hp 检出结果 RUT 检测 Hp 阳性率低于美蓝染色检测,差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 1。

2.2 不同检测方法敏感度、特异度比较 美蓝染色检测 Hp 敏感度、特异度均高于 RUT 检测,差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 2。

2.3 不同检测方法染色效果比较 美蓝染色方法着色强度、细胞阳性率评分均高于 RUT 检测,差异有统计学意义(*P*<0.05),但着色背景评分与 RUT 检测比较,差异无统计学意义(*P*>0.05),见表 3。

表 1 不同检测方法 Hp 检出结果[n(%)]

检测方法	<i>n</i>	慢性浅表性胃炎(<i>n</i> =20)			胃溃疡(<i>n</i> =21)			胃癌(<i>n</i> =9)			检出率
		Hp+	Hp++	Hp+++	Hp+	Hp++	Hp+++	Hp+	Hp++	Hp+++	
RUT	50	8	11	0	3	9	5	6	0	0	42(84.00)
美蓝染色	50	8	10	1	4	11	6	7	1	0	48(96.00)*

注:*与 RUT 检测比较, $\chi^2=3.495$,*P*=0.027

表2 不同检测方法敏感度、特异度比较(%)

检测方法	阳性	阴性	敏感度	特异度
RUT	40	2	85.10	33.33
美蓝染色	47	1	100.00	66.67

2.4 不同时间点不同检测方法 Hp 阳性检出率比较 2、5、10 min 时间点, 美蓝染色检测 Hp 阳性率均高于 RUT 检测($P<0.05$), 但两者 20 min 时间点比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 见表 4。

表4 不同时间点不同检测方法 Hp 阳性检出率[n(%)]

检测方法	n	2 min	5 min	10 min	20 min
RUT	50	23(46.00)	30(60.00)	42(84.00)	50(100.00)
美蓝染色	50	39(78.00)	47(94.00)	48(96.00)	49(98.00)
t		6.304	8.935	9.453	0.745
P		0.011	0.000	0.000	0.328

2.5 美蓝染色镜下 Hp 形态特点 Hp 呈弯曲状、S 状、短弧状以及杆状, 位于胃小凹及胃小凹分泌物中也可见于上皮细胞浆中。

3 讨论

目前, 临床 Hp 检查方法中, 组织切片染色镜检以直观、准确、不需要病理或建议外加取组织而备受临床重视^[17]。但是传统经典的染色操作繁复, 耗时长, 操作技术难以掌握。寻找操作简单、快速、准确的切片染色法是目前研究的主要方向^[18]。RUT 的检测原理是 Hp 含有大量的尿素酶, 短时间内分解尿素产生氨, pH 值快速升高, 致使酚酞指示剂发生颜色变化, 据此判断有无 Hp 感染。但是 RUT 检测容易受到样本大小、Hp 在胃部的灶性分布影响, 使其特异性降低。同时相关研究显示^[19], 其他菌株也会产生尿素酶, 从而导致 RUT 检出出现假阳性, 降低敏感度。而本研究选择的美蓝染色技术成本低、操作简单、检测快速, 从理论上分析, 具有相对更优的应用优势。但是对胃镜活检切片组织中检查 Hp 的具体临床应用价值还需要进一步探索。

本研究结果显示, RUT 检测 Hp 阳性率为 84.00%, 低于美蓝染色检测的 96.00% ($P<0.05$), 表明 RUT 和美蓝染色对比, 美蓝染色技术在胃镜活检切片组织中 Hp 检出率更高, 具有更显著的应用优势, 可一定程度减少假阴性。同时研究结果显示, 美蓝染

表3 不同检测方法染色效果比较($\bar{x}\pm s$, 分)

检测方法	n	着色强度	着色背景	细胞阳性率
RUT	50	1.46±0.15	1.21±0.21	1.54±0.30
美蓝染色	50	2.65±0.22	1.65±0.15	3.19±0.56
t		2.394	0.896	2.985
P		0.041	0.414	0.036

色检测 Hp 敏感度、特异度均高于 RUT 检测 ($P<0.05$), 提示美蓝染色技术 Hp 检出敏感度和特异度均较高, 可实现较良好的检出效能。因美蓝染色技术可避免切片脱落, 且 Hp 菌体深蓝色易于检出, 更有利提高检出敏感度和特异度。故, 临床上可以选择美蓝染色技术来达到最佳的检测效果, 为早期诊断提供有力的依据。美蓝染色方法着色强度、细胞阳性率评分均高于 RUT 检测, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 但着色背景评分与 RUT 检测比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 提示美蓝染色方法在着色强度、细胞阳性率方面评分显著升高, 进一步表明染色效果更佳, 利于镜下对 Hp 的观察, 从而可有效促进 Hp 细菌的检出, 该结论与叶铭坤等^[20]的研究结果基本一致。此外, 2、5、10 min 时间点, 美蓝染色检测 Hp 阳性率均高于 RUT 检测 ($P<0.05$), 但两者 20 min 时间点比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 表明 5~10 min 两种检测方法基本可检出 Hp 感染阳性患者, 但是 RUT 检测随着时间延长阳性率显著升高, 进一步提示 RUT 检测受反应时间的影响, 如果反应时间过程则可能会出现假阳性。同时美蓝染色技术镜下显示 Hp 呈弯曲状、S 状、短弧状以及杆状, 位于胃小凹及胃小凹分泌物中也可见于上皮细胞浆中, 利于观察和分别, 从而可促进 Hp 检出率。

综上所述, 美蓝染色技术在胃镜活检切片组织中检查 Hp 具有较高的临床应用价值及良好的染色效果, 可提高 Hp 检出敏感度、特异度, 从而及时发现患者是否感染 Hp, 有利于患者的及时治疗。

参考文献:

- [1] 栗安刚. 胃癌患者术前胃镜活检病理与外科术后病理的差异分析[J]. 黑龙江医学, 2018, 42(9): 881-882.
- [2] 段文冰, 宋晓斐, 王子娥, 等. 幽门螺旋杆菌 IgG 抗体及 ¹³C-尿素呼气试验在查体中的临床应用[J]. 贵州医药, 2016, 28(11): 225-227.
- [3] 钟玉全, 张旭, 杨丽, 等. 180 例胃癌术前胃镜病理活检结果及误漏诊因素分析[J]. 西南国防医药, 2018, 28(7): 615-617.

(下转第 148 页)

(上接第144页)

- [4]易智君,黄卓雅,冯得财,等.胃癌术前胃镜病理与术后切除组织病理检查异同分析[J].哈尔滨医药,2018,38(3):268-269.
- [5]冯超.幽门螺旋杆菌感染的组织病理学与内镜下表现的相关性研究[D].青岛:青岛大学,2020.
- [6]中华医学会病理分会消化病理学组筹备组.慢性胃炎及上皮性肿瘤胃黏膜活检病理诊断共识[J].中华病理学杂志,2017,46(5):289-293.
- [7]刘洪波,祁晓莉,张勇,等.免疫组化染色在幽门螺旋杆菌病理检测中的优势与意义[J].临床与实验病理学杂志,2018,29(3):321-323.
- [8]孙文峰.丹东地区居民幽门螺旋杆菌感染影响因素分析[D].锦州:锦州医科大学,2017.
- [9]李安全,周小微.尿素¹³C呼气试验与血清抗体和组织病理学在检测幽门螺旋杆菌感染的比较[J].中国医药科学,2017,15(9):304-306.
- [10]袁世梅,杨伟,魏进武,等.不同诊断方法对消化内科幽门螺旋杆菌感染的诊断价值[J].检验医学与临床,2021,14(7):292-294.
- [11]吴赛青,欧阳劲光,窦红漫,等.三种胃幽门螺旋杆菌检测方法比较[J].临床与实验病理学杂志,2019,35(4):486-487.
- [12]方莹,韩亚楠,王敏.三种非侵入性方法检测儿童幽门螺旋杆菌感染的灵敏度和特异度比较[J].陕西医学杂志,2015,44(8):961-962.
- [13]张燕,岳玉林,张之烽,等.儿童幽门螺旋杆菌感染检测方法临床适用性分析[J].东南国防医药,2017,20(5):156-158.
- [14]王南萍,王逸云,余师师,等.改良幽门螺旋杆菌抗原检测试剂盒检测粪便幽门螺旋杆菌抗原的临床评价[J].中国微生态学杂志,2018,15(11):216-228.
- [15]李慧娟,樊路娟,酒康楠,等.¹³C尿素呼气试验在幽门螺旋杆菌感染诊断及预后评估中的临床价值[J].中国卫生检验杂志,2020,25(11):234-237.
- [16]刘捷.非侵入性检测方法在儿童幽门螺旋杆菌感染中的应用[J].中国妇幼保健,2019,15(12):194-196.
- [17]朱玉琴.实时荧光PCR检测胃黏膜组织中幽门螺旋杆菌的应用研究[D].福州:福建医科大学,2020.
- [18]彭磊,魏舒纯,张伟锋,等.幽门螺旋杆菌的诊断方法及其评价[J].胃肠病学,2019,24(5):308-309.
- [19]邓士杰,喻朝霞.硼酸钠-冰醋酸亚甲蓝染色法检测幽门螺旋杆菌效果评价[J].皖南医学院学报,2022,14(6):31-34.
- [20]叶铭坤,梁栋伟,邓健能,等.两种非侵入性幽门螺旋杆菌检测方法的比较[J].国际检验医学杂志,2017,36(20):3041-3042.

收稿日期:2022-07-27;修回日期:2022-08-25

编辑/肖婷婷