

消化系统疾病专题·论著

幽门螺杆菌在小儿梅克尔憩室中的 检出率及临床意义

周诗琼¹ 梅红¹ 段栩飞² 叶国刚² 王宝香¹

(武汉市儿童医院 1. 消化内科; 2. 普外科, 湖北 武汉 430016)

[摘要] **目的** 探讨幽门螺杆菌(Hp)在梅克尔憩室(MD)患儿MD组织中的检出率及临床意义。**方法** 应用免疫组织化学法检测45例MD并出血组和36例MD并非出血组患儿MD组织和胃组织Hp的检出率,比较其在两组组织中及不同临床特征出血患儿的MD组织中的检出率差异。**结果** 出血组MD组织Hp阳性检出率76%(34/45)高于非出血组47%(17/36)($P<0.05$);出血组胃组织Hp阳性检出率[87%(39/45)]与非出血组[67%(24/36)]比较差异无统计学意义($P>0.05$)。MD并出血患儿MD组织中Hp检出率与患儿年龄、性别、术前出血次数、每次出血量、MD长度、MD基底直径和病理类型无关(均 $P>0.05$),与MD位置、是否伴有溃疡及溃疡深浅有关(均 $P<0.05$)。Spearman相关分析显示出血组患儿MD组织与胃组织中Hp阳性检出率呈显著正相关($P<0.05$)。**结论** Hp在MD并发出血患儿MD组织中有较高的检出率,Hp感染在MD并出血患儿的出血过程中可能起一定作用。**[中国当代儿科杂志, 2014, 16(3): 238-241]**

[关键词] 幽门螺杆菌;梅克尔憩室;免疫组化;消化道出血;儿童

Detection rate of *Helicobacter pylori* and its clinical significance in children with Meckel's diverticulum

ZHOU Shi-Qiong, MEI Hong, DUAN Xu-Fei, YE Guo-Gang, WANG Bao-Xiang. Department of Gastroenterology, Children's Hospital of Wuhan, Wuhan 430016, China (Mei H, Email: yishi-mei@163.com)

Abstract: Objective To determine the detection rate of *Helicobacter pylori* (Hp) in children with Meckel's diverticulum (MD) and its clinical significance among children with MD. **Methods** Eighty-one children with MD were divided into two groups according to the presence ($n=45$) or absence ($n=36$) of digestive hemorrhage. The detection rates of Hp in MD tissues and stomach tissues were determined by immunohistochemistry. The detection rates of Hp were compared between the two groups and between the MD tissues with different clinical features in the hemorrhage group. **Results** The detection rate of Hp in MD tissues for the hemorrhage group was 76% (34/45), which was significantly higher than that for the non-hemorrhage group (47%, 17/36) ($P<0.05$). The detection rate of Hp in stomach tissues for the hemorrhage group (87%, 39/45) was insignificantly higher than that for the non-hemorrhage group (67%, 24/36) ($P>0.05$). Among patients in the bleeding group, the detection rate of Hp in MD tissues showed no relationship with age, sex, preoperative hemorrhage frequency, amount of hemorrhage, length of MD, basal diameter of MD, and pathological type ($P>0.05$), but was related to location of MD, presence or absence of ulcer, and depth of ulcer ($P<0.05$). For the hemorrhage group, a significant positive correlation was found between the detection rates of Hp in MD tissues and stomach tissues ($P<0.05$), as shown by the Spearman correlation analysis. **Conclusions** The detection rate of Hp in MD tissues is increased in children with MD complicated by digestive hemorrhage. Hp infection may play some role in the hemorrhage process among children with MD. **[Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(3): 238-241]**

Key words: *Helicobacter pylori*; Meckel's diverticulum; Immunohistochemistry; Digestive hemorrhage; Child

[收稿日期] 2013-09-02; [接受日期] 2014-01-15

[基金项目] 武汉市卫生局2011年度临床医学科研项目(WX11D10)。

[作者简介] 周诗琼,女,硕士,副主任医师。

[通信作者] 梅红,女,主任医师。

梅克尔憩室 (Meckel's diverticulum, MD) 是胚胎期卵黄管退化不完全所形成的一种常见小肠发育畸形, 是儿童下消化道出血常见原因之一^[1]。临床主要表现为出血、感染或肠扭转、肠梗阻。幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, Hp) 是一种螺旋状、微需氧、主要定植于人胃黏膜的革兰阴性菌, 而部分 MD 黏膜存在异位胃黏膜, 为 Hp 定植、感染提供了可能性^[2]。目前有关 MD 出血与 Hp 感染关系尚未明了, 学者们意见不一^[2-3]。因此本研究采用免疫组织化学方法监测了 45 例 MD 并出血和 36 例 MD 并非出血患儿 MD 及胃组织中 Hp 的检出率, 探讨 Hp 感染与 MD 并出血的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取我科 2010 年 1 月至 2013 年 1 月收治经手术及病理确诊的 MD 患儿 81 例为研究对象, 根据临床症状分为出血组 (45 例, 其中异位胃黏膜 40 例, 异位胰腺 2 例, 其它组织 3 例) 和非出血组 (36 例, 其中异位胃黏膜 20 例, 异位胰腺 2 例, 其它组织 14 例), 非出血组中因术前诊断阑尾炎术中发现 MD 者 11 例, 因肠梗阻剖腹探查发现 MD 者 23 例, 因其它原因剖腹探查发现 MD 者 2 例。45 例出血组患儿中男 34 例, 女 11 例, 年龄 4 个月~14 岁, 中位年龄 2 岁 7 个月, 术前出血次数 ≤ 2 次 27 例, >2 次 18 例; 36 例非出血组患儿中男 25 例, 女 11 例, 年龄 6 个月~12 岁, 中位年龄 3 岁 2 个月。另外, 出血组患儿术前胃镜检查取得胃组织, 非出血组术后 2 周胃镜检查活检取得胃组织。Hp 检测采用多克隆兔抗, 一抗 (ZA-0127) 由中山金桥提供。

1.2 研究方法

采用免疫组化法检测 MD 及胃组织中 Hp 抗体。(1) 脱蜡、水化组织切片, 1 mM pH 8.0 EDTA 抗原修复;(2) 3% 双氧水去离子水孵育 10 min, 以阻断内源性过氧化物酶;(3) PBS 冲洗, 2 min $\times$ 3 次;(4) 滴加一抗, 室温或 37℃ 孵育 1~2 h, PBS 冲洗, 2 min $\times$ 3 次;(5) 滴加试剂 1 (Polymer Helper), 室温或 37℃ 孵育 20 min, PBS 冲洗, 2 min $\times$ 3 次;(6) 滴加试剂 2 (二抗多聚体), 室温或 37℃ 孵育 20~30 min, PBS 冲洗,

2 min $\times$ 3 次;(7) DAB 溶液显色;(8) 自来水充分冲洗、复染苏木素、脱水、透明、封片。

1.3 判定标准

胃黏膜及异位胃黏膜的上皮细胞表面及胞浆中 Hp 的阳性表达呈棕色或棕褐色, 高倍显微镜下可见 Hp 即判定为阳性检出。2 例已经确诊 Hp 感染的标本作为阳性对照。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件对数据进行统计学分析, 计数资料用百分率 (%) 表示, 两组间比较采用 χ^2 检验, MD 及胃组织中 Hp 检出率的相关性分析采用 Spearman 等级相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hp 在 MD 组织及胃组织中的检出率

胃组织标本或 MD 组织的胃黏膜或异位胃黏膜上皮细胞表面及胞浆中可见 Hp 阳性表达, 呈棕色或棕褐色, 高倍显微镜下可见 Hp, 见图 1。

出血组 MD 组织 Hp 阳性检出率高于非出血组 ($P=0.011$); 出血组胃组织 Hp 阳性检出率与非出血组比较差异无统计学意义 ($P=0.058$)。见表 1。

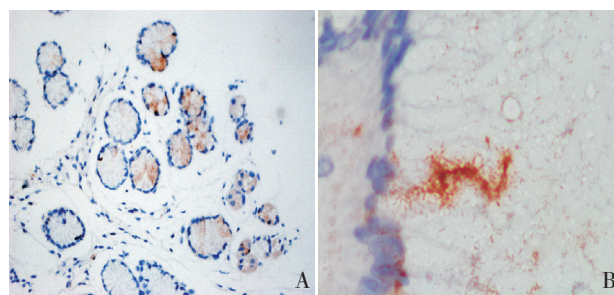


图 1 免疫组化法检测 Hp 在 MD 异位胃黏膜组织中的表达 (DAB) 图 A ($\times 200$) 可见细胞膜及胞浆中 Hp 阳性表达呈棕色或棕褐色; 图 B ($\times 1000$) 高倍显微镜下可见 Hp 聚集成团。

2.2 MD 并出血患儿 MD 组织中 Hp 检出率与各临床因素间的关系

MD 并出血患儿 MD 组织中 Hp 阳性检出率与患儿年龄、性别、术前出血次数、每次出血量、MD 长度、MD 基底直径和病理类型无相关性 (均 $P > 0.05$), 与 MD 距回盲部距离、胃黏膜分布、是否伴有溃疡及溃疡深浅有相关性 (均 $P < 0.05$), 见表 2。

表1 Hp在MD患儿胃及MD组织中的检出率 [例(%)]

组别	例数	MD组织		胃组织	
		Hp阳性	Hp阴性	Hp阳性	Hp阴性
出血组	45	34(76)	11(23)	39(87)	6(13)
非出血组	36	17(47)	19(53)	24(67)	12(33)
χ^2 值		6.885		4.629	
P值		0.011		0.058	

表2 出血组患儿Hp在MD组织中的检出率与各临床因素间的关系 [例(%)]

临床因素	例数	Hp 阳性	Hp 阴性	χ^2 值	P 值
年龄					
<3 岁	31	24(77)	7(23)	0.187	0.717
≥ 3 岁	14	10(71)	4(29)		
性别					
男	34	25(74)	9(26)	0.309	0.705
女	11	9(82)	2(18)		
术前出血次数					
≤ 2 次	27	23(85)	4(15)	3.389	0.086
>2 次	18	11(61)	7(39)		
出血量					
≤ 200 mL	33	27(82)	6(18)	2.628	0.131
>200 mL	12	7(58)	5(42)		
MD 距回盲部距离					
≤ 35 cm	28	18(64)	10(36)	5.097	0.033
>35 cm	17	16(94)	1(6)		
MD 长度					
≤ 2 cm	18	12(67)	6(33)	1.283	0.304
>2 cm	27	22(81)	5(19)		
MD 基底直径					
≤ 1 cm	12	8(67)	4(33)	0.700	0.448
>1 cm	33	26(79)	7(21)		
病理类型					
尖端游离	9	6(67)	3(33)	0.481	0.666
尖端不游离	36	28(78)	8(22)		
胃黏膜分布					
无黏膜	5	1(20)	4(80)	13.269	0.001
广泛	26	24(92)	2(8)		
小岛状	14	9(64)	5(36)		
伴有溃疡					
是	36	31(86)	5(14)	10.859	0.003
否	9	3(33)	6(67)		
溃疡深度					
无溃疡	9	3(33)	6(67)	10.860	0.004
黏膜及黏膜下	29	25(86)	4(14)		
肌层	7	6(86)	1(14)		

2.3 出血组MD患儿胃及MD组织中Hp检出率的相互关系

45例MD并出血患儿中,32例MD组织和胃组织中Hp均同时为阳性表达,4例均同时为阴性表达,出血组患儿MD组织与胃组织中Hp阳性表达呈显著正相关($r=0.835$, $P=0.009$)。

3 讨论

免疫组化染色方法主要用于检测Hp球形菌、治疗后Hp球形变或Hp致病机理的研究,其虽然不能作为诊断Hp感染常规手段,但组织病理切片敏感度在66%~100%,特异度在94%~100%^[4],因此比较适合胃黏膜及MD组织中Hp的检测。

本研究结果显示,出血组MD组织Hp阳性检出率(76%)高于非出血组(47%),提示Hp感染在MD患儿的出血中可能起一定作用。Edge等^[5]研究认为MD组织中Hp感染与MD出现临床并发症表现有明显相关,Ackerman等^[3]用免疫组化方法监测了7例MD并出血患儿中Hp感染情况,发现3例MD组织中伴Hp感染,进一步证实Hp在MD出血的病理过程中起着一定作用。但也有许多学者认为MD并发出血与Hp感染无关,Karagin等^[6]用PCR方法检测了33例MD组织,没有发现MD组织中有Hp的存在,Finn等^[7]用免疫组化方法回顾分析了10年45例MD组织中Hp的检出率,发现28例MD并发出血MD组织中仅1例Hp为阳性表达,Brar等^[8]认为MD并出血主要与MD中异位胃黏膜致MD溃疡有关,与Hp感染无关。本组结果显示MD组织中Hp阳性检出率较高,考虑与下列因素相关:(1)儿童感染Hp多无明显临床表现。Sicinschi等^[9]非侵入的尿素呼吸试验检测86例无临床表现儿童,发现69例为阳性,阳性率为80.2%;(2)我国是Hp高感染国家。约有7亿人感染H pylori,普通人群的感染率为34.52%~80.55%,多数地区人群感染率在50%左右,平均感染率为58.07%^[10];(3)儿童是Hp感染的高危人群。我国流行病学调查显示,Hp主要以口-口、粪-口途径传播,儿童期为Hp感染率剧增期,每年以3%~10%甚至更高的速度急剧上升,至10岁有40%~60%以上的人受感染^[11];张勇等^[12]检测了376例有上消化道症状的3~16岁患儿,发现Hp感染率达44.9%。(4)西方发达国家儿童Hp感染率较低。瑞典4~18岁自然人群中Hp阳性率为10.1%,法国10岁内儿童Hp感染率仅为3.5%^[13]。

本研究还表明,MD并出血患儿MD组织中Hp阳性检出率与患儿年龄、性别、术前出血次数、每次出血量、MD长度、MD基底直径和病理类型

无关,但与MD位置、异位胃黏膜分布是否伴有溃疡及溃疡深度相关。MD距离回盲部越远, Hp阳性检出率越高,提示MD组织中Hp感染与胃组织中Hp密切相关。Kim等^[14]研究发现20例Hp感染的胃炎患者中,11例末端回肠灌洗液中可培养出Hp,仅9例直肠灌洗液中可培育出Hp,本研究结果与之相似。Hp已确认与消化性溃疡密切相关^[15],本研究也发现,当MD伴有溃疡时, Hp阳性检出率越高,反之,MD未伴发溃疡时, Hp阳性检出率较低,表明Hp可能参与了MD出血的病理生理过程。但Hp如何引起MD溃疡?是否和其引起胃及十二指肠溃疡机制一样?还需进一步更具体研究和证实。

本研究45例MD并出血患儿中,32例MD组织和胃组织中Hp均同时表达阳性,4例均同时表达阴性,出血组患儿MD组织与胃组织中Hp阳性检出率呈显著正相关,表明MD组织中Hp与胃组织中Hp密切相关,提示MD中Hp可能来自胃组织。Moon等^[16]通过大便抗原试验检测到Hp感染的C57BL/6小鼠的大便中存在Hp,表明Hp可通过消化道而不被灭活, Hp为革兰阴性菌,主要定植于人的胃黏膜,MD并出血患儿MD组织中有较高的异位胃黏膜存在(40/45),为Hp定植、感染提供了可能性。

总之,MD组织中异位胃黏膜的存在为Hp感染提供了基础,MD中Hp可能来自胃组织, Hp在MD并发出血患儿MD组织中有较高的检出率, Hp感染在MD并出血患儿的出血过程中可能起一定作用。

[参 考 文 献]

- [1] 郑珊.梅克尔憩室[M]//施诚仁,金先庆,李仲智.小儿外科学.第4版.北京:人民卫生出版社,2010:284-287.
- [2] Tuzun A, Polat Z, Kilciler G, et al. Evaluation for Helicobacter pylori in Meckel's diverticulum by using real-time PCR[J]. Dig Dis Sci, 2010, 55(7): 1969-1974.
- [3] Ackerman Z, Peston D, Cohen P. Role of Helicobacter pylori infection in complications from Meckel's diverticulum[J]. Dig Dis Sci, 2003, 48(6): 1068-1072.
- [4] Guarner J, Kalach N, Elitsur Y, et al. Helicobacter pylori diagnostic tests in children: review of the literature from 1999 to 2009[J]. Eur J Pediatr, 2010, 169(1): 15-25.
- [5] Edge JM, Schneider JW, Moore SW. Clinicopathological features of Meckel's diverticula in 32 patients, with emphasis on the presence of Helicobacter pylori[J]. S Afr J Surg, 2001, 39(3): 80-82.
- [6] Karagin PH, Stenram U, Wadstrom T, et al. Helicobacter species and gut bacterial DNA in Meckel's diverticulum and the appendix[J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(36): 4104-4108.
- [7] Finn LS, Christie DL. Helicobacter pylori and Meckel's diverticula[J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2001, 32(2): 150-155.
- [8] Brar AS, Gill RS, Gill SS, et al. NSAID-associated perforation of a meckels diverticulum: a case report[J]. J Clin Med Res, 2011, 3(2): 96-98.
- [9] Scicinski LA, Correa P, Bravo LE, et al. Non-invasive genotyping of Helicobacter pylori cagA, vacA, and hopQ from asymptomatic children[J]. Helicobacter, 2012, 17(2): 96-106.
- [10] 王凯娟,王润田.中国幽门螺杆菌感染流行病学Meta分析[J].中华流行病学杂志,2003,24(6):443-446.
- [11] 胡伏莲.幽门螺杆菌感染的流行病学[J].中国医刊,2007,42(2):17-18.
- [12] 张勇,李锦霞.有消化道症状儿童幽门螺杆菌现症感染的调查[J].中国当代儿科杂志,2012,14(9):675-677.
- [13] 单庆文,王琳琳.儿童幽门螺杆菌感染的流行病学研究进展[J].医学综述,2004,10(9):570-573.
- [14] Kim do H, Jung HM, Hwang YJ, et al. Culture and polymerase chain reaction of Helicobacter pylori from rectal and terminal ileal fluid after polyethylene glycol (colyte) ingestion in healthy adults with positive urea breath test[J]. Korean J Gastroenterol, 2010, 56(1): 27-32.
- [15] 金哲,胡扶莲,魏红,等.幽门螺杆菌长期感染蒙古沙土鼠腺胃模型的建立与评价[J].中华医学杂志,2008,88(22):1518-1522.
- [16] Moon DI, Shin EH, Oh HG, et al. Usefulness of a Helicobacter pylori stool antigen test for diagnosing Hp infected C57BL/6 mice[J]. Lab Anim Res, 2013, 29(1): 27-32.

(本文编辑:王庆红)