

幽门螺杆菌临床检测研究进展

黄培宁(综述)

基金项目: 广西卫生厅自筹经费科研课题(编号: Z2010222)

作者单位: 533000 广西, 百色市人民医院消化内科

作者简介: 黄培宁(1970-), 男, 大学本科, 医学学士, 副主任医师, 研究方向: 消化内科疾病诊治。E-mail: huangpeining@163.com

[摘要] 准确可靠的检测方法是诊断胃 *H pylori* 感染和评价临床疗效的关键。按检测取材方式的不同可分为侵入性和非侵入性, 前者包括微生物学方法、形态学检查、尿素酶依赖性试验, 而后者包括血清免疫学、基因分子生物学检测、粪便 *H pylori* 抗原检测等。

[关键词] 幽门螺杆菌; 检测

[中图分类号] R 378.99 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2010)09-0918-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2010.09.47

Progress in clinical detection of *Helicobacter pylori* HUANG Pei-ning. Department of Gastroenterology, Baise People's Hospital, Guangxi 533000, China

[Abstract] A accurate and reliable detection method is the key to diagnosing gastric *H pylori* infection and valuing clinical therapeutic effect. According to the different ways of drawing materials *H pylori* detections can be divided into invasive and non-invasive methods, the former include microbiological method, morphologic examination, urease-dependent tests; the latter include serological, genetic molecular biology detection, feces *H pylori* antigen detection, and so on.

[Key words] *Helicobacter pylori*; Detection

自从1982年Marshall和Warren从慢性活动性胃炎患者的胃黏膜中分离出幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)之后, Hp与上消化道疾病之间的关系受到消化界学者及微生物学家的极大关注, 及早诊断Hp对防治上消化道疾病有重要意义。世界卫生组织曾向世界各地发出通知, 要求积极开展Hp检测工作, 并明确指出Hp是胃癌的第一致病因素。经过20多年的发展, 有关幽门螺杆菌临床检测的研究取得了长足进步和可喜成果, 并在临床上逐步得到应用。根据Hp检测同时是否需做胃镜检查分为: (1) 侵入性检测。在胃镜下采取活检标本包括: 快速尿素酶试验、细菌培养、活检标本切片染色、直接涂片染色和聚合酶链反应(PCR)等。(2) 非侵入性检测。不需胃镜检查, 包括: ^{13}C 、 ^{14}C 呼吸试验、血清免疫学检测、 ^{15}N 尿素排泄试验等。各种检测方法各有其优缺点。现将幽门螺杆菌临床检测应用研究进展综述如下。

1 侵入性检测

1.1 快速尿素酶试验 该试验是所有检测手段中最为简便迅速的一种方法, 与胃镜检查同时进行, 敏感性和特异性分别达91%和100%, 数分钟即可作出诊断。使用简便、快速、廉价, 其敏感性和诊断效率均高于镜检Hp, 但存在假性结果^[1]。活检标本的尿素酶活性主要与感染Hp的数量多少有关, 量少时可造成假阴性结果, 而其它能产生尿素酶的细

菌如空肠螺杆菌、变形杆菌等, 都能水解尿素, 可造成假阳性反应, 单独测定有22%的假阳性, 因此在应用快速尿素酶试验检测方法时, 要充分考虑到许多因素可造成假阳性和假阴性的结果^[2], 此法不宜单独作为Hp根除率的检查^[3]。

1.2 细菌培养 胃黏膜组织的细菌培养是诊断Hp感染的最可靠方法, 可作为验证其他检测手段的“金标准”。目前, 分离培养Hp大多采用固体培养基, 而用液体培养基培养Hp比较复杂、困难。目前主要有两种方法, 一种是静态培养, 另一种是震荡培养。尽管Hp感染诊断的金标准是分离培养, 但Hp的培养要求具有一定的厌氧培养条件和技术, 容易污染, 给分离鉴定带来一定的困难, 作为常规诊断手段不易推广, 而且细菌培养需要一定的时间, 不利于快速诊断, 培养结果受不少因素影响, 当Hp变成圆球形、死亡、菌量过少或培养环境达不到Hp生长的要求时, 则常规方法难以检出而致假阴性, 因而国内尚未广泛开展, 至今只有少数实验室把它用于科研, 而不作为常规检测而用于临床^[4]。但Hp的培养分离可为临床提供有意义的资料, 如对常规Hp根除失败需行药敏试验来选择有效抗生素者^[5]。

1.3 活检标本切片染色 将胃黏膜活检组织标本用100%中性福尔马林固定, 常规石蜡包埋、切片染色, 根据Hp的形态学特征进行检测和分析, 可直接观察胃黏膜表面上定植的

Hp, 是临床上最常用的另一项 Hp 诊断的“金标准”。染色的方法有多种, 常用的方法有: (1) 苏木精-伊红(HE)染色; (2) Gram 染色; (3) Warthin-Starry (W-S) 银染色; (4) Giemsa 染色; (5) 其他染色法, 如可耻橙染色、阿的平荧光染色、石炭酸复红染色、Gimenez 染色等; (6) 间接免疫荧光检查; (7) 免疫组化。其中 W-S 染色效果最佳^[6], 其细菌清晰易辨, 特异性和敏感性几乎均达 100%, 但该方法繁琐费时, 且需一定技术。传统的 W-S 染色法是用 1 g 硝酸银加 100 ml 酸化水配制成 1% 硝酸银染液, 该方法显色时间长, 如果加热时控制不好, 温度过高, 会导致切片中标本呈现干枯状, 染色出现非特异的结果; 而经改进后的改良 W-S 染色法显色时间明显缩短, 染色效果易于控制, 改进后的染色方法对于幽门螺杆菌的检出率是相同的, 而且诊断可靠, 不会出现假阳性的染色结果。改良 W-S 染色法是一种较为经济实用的染色法, 它有着试剂配制简便、诊断准确迅速等特点, 在一般的实验室即可得到广泛的开展, 在幽门螺杆菌的检测中具有独特的优势和很高的应用价值^[7]。组织学检查有许多优点, 用常规组织学检查的标本即可, 其方便、价廉、且可长期保存, 可提供 Hp 和组织学方面的资料, 对既往的资料也可进行回顾性研究, 这是任何其他诊断方法无法替代的。

1.4 细胞涂片染色 Piccolomini 等^[8]报道, 用 leifson 靛胺一品红染色法来做胃活检标本印片细胞学检查, 以显示 Hp 的鞭毛, 并与组织学检查、RUT 和细菌培养等法进行比较, leifson 染色法 15 min 可完成, 其特异性和敏感性与其他检查方法差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 是一种非常有用的侵入性试验方法。由于涂片是将 Hp 主要定植部位的黏液进行观察, 阳性率很高, 因此是经济、准确和较快速的诊断方法, 适合行胃镜检查而未开展快速尿素酶试验检测 Hp 的单位进行。但目前随着快速尿素酶试验的普及, leifson 染色法已经很少在临床上应用。

1.5 电镜对 Hp 的超微结构观察 在电镜下, Hp 呈弯曲形或 S 型、V 型、环形、小球形及杆状, 菌体长约 1.5 ~ 6 μm , 表面光滑, 两端钝圆, 有 1 ~ 6 根带鞘鞭毛; 胃窦部 Hp 稍长, 其它部位的较短, 细菌常多个或散在分布于胃黏膜上皮微绒毛之间, Hp 存在部位病理改变主要为上皮微绒毛减少、消失、断裂, 部分不规则包绕菌体。电镜对 Hp 的超微结构观察是任何检测方法无法比拟的, 但电镜昂贵, 其对 Hp 的临床应用价值不高, 限制了它的推广应用, 目前仅限于科研方面。

1.6 分子生物学方法 随着生物化学和分子生物学的快速发展, 研究人员开始尝试用 PCR 技术来检测 Hp, 并取得了很好的效果。姜浩等^[9]用 PCR 技术对 Hp 进行检测, 在 74 例患有各种胃部疾患的门诊及住院患者胃液标本中, 检出 Hp 阳性 52 例, 阳性率 70.3%, 表明用 PCR 技术检测 Hp 敏感性和特异性均优于传统方法, 有较高的临床应用价值。Datta 等^[10]验证了 PCR 这种快速检测 Hp 感染的方法的有效性, 该法在不对细菌进行培养的条件下, 就能够知道该菌的基因型, 培养呈阳性的菌株的基因型和用 PCR 方法从胃液中得到的基因型是一致的, 并且发现胃液 PCR 对多菌株感染的

检测要比从培养基中分离到的菌株所得到的基因型更为有效。随机扩增多态性 DNA (RAPD) 及限制性片段长度多态性 (RFLP) 试验是在 PCR 技术基础上发展起来的两种方法, 它们的共同特点是都能区别 Hp 株的特异性。因此, 这两种试验是追踪 Hp 的传染源或判断溃疡病复发是由于 Hp 未根除还是再感染的有效工具。Han 等^[11]采用 RAPD 方法研究了母亲对子女传染 Hp 的概率, 并且证实了感染儿童的基因型和其母亲是一致的。除用来检测外, RAPD 也是一个对 Hp 进行基因分型的有效技术。荧光原位杂交 (FISH) 也是一种较好的检测方法, Can 等^[12]用传统培养法、FISH 和病理学方法对 117 例组织标本中 Hp 进行了检测, 结果表明, 用组织病理学方法和 FISH 检测出 70 例, 然而用培养的方法只检测到 47 例。用培养的方法检测出来的 47 例中, 只有 1 例用组织病理学方法没有检测到, 可见利用 FISH 方法进行检测还是比较可靠和准确的。成熟的 PCR 技术除了可应用胃及口腔等部位的消化道标本的检测外, 还可用于体外标本检测, 这可以解决 Hp 检测中的传播问题。采用 PCR 方法进行 Hp 的检测是一种很敏感、特异性较好的方法。问题是必须具有合适的引物、良好的设备、严格的实验条件等才能保证检测成功。因此, 目前在临床上仅用于研究, 尚未普遍开展。

2 非侵入性检测

2.1 Hp 产生的尿素酶活性在已经发现的细菌中最强, 是 Hp 的重要定植和致病因子。尿素酶可分解胃液中的尿素产生 CO_2 和 NH_3 , 可以用不同的同位素标记在尿素的 C 原子或 N 原子上, 然后让被试者口服一定量的标记尿素, 定时收集呼出的气体或排出的尿, 检测其中标记 CO_2 和 NH_3 的排出率, 即可准确地反映 Hp 在胃中的存在。由此, 产生了三种不同的试验, 即 $^{13}\text{CO}_2$ 呼气试验、 $^{14}\text{CO}_2$ 呼气试验和用 ^{15}N 标记的 ^{15}N 排出试验。三种同位素示踪法进行诊断的原理是一样的, $^{13}\text{CO}_2$ 和 $^{14}\text{CO}_2$ 呼气试验是分别用 ^{13}C 和 ^{14}C 作标记的, 只是 ^{13}C 是稳定性同位素, 检测仪器需用质谱仪, 但目前已可用光谱仪检测, ^{13}C 尿素呼气试验, 口服 ^{13}C 记的尿素后, 利用 Hp 菌体所含的特征性尿素酶与该尿素反应产生 $^{13}\text{CO}_2$ 吸收入血并经肺呼出, 用质谱仪检测 $^{13}\text{CO}_2$ 含量, 即可判断是否感染 Hp, 且无创伤、无放射性、先进、即时、灵敏、特异、快速, 口服分布均匀, 可避免采样误差。儿童多采用 ^{13}C , 但缺点在于, 技术、设备要求高, 价格相对较高, 结果受消化道杂菌、服药、呼气间隔时间长短及所确定阈值高低的影响, 因此目前尚不能广泛开展^[13]。目前广泛开展的 ^{14}C 是放射性同位素, 可用液体闪烁扫描仪检测, ^{14}C -尿素 (UBT) 操作简单、价格低廉、易于推广, 但 ^{14}C -尿素最大的不足是具有放射性, 为此, Raju 等^[14]采用了 37 kBq 的 ^{14}C -尿素胶囊, 有报道 37 kBq ^{14}C -UBT 所产生的辐射剂量为 $(1.4 \sim 3.0) \times 10^6 \text{ sv}$, 此剂量为胸透的 1/7, 钡餐的 1/1000^[15]。 $^{13}\text{CO}_2$ 和 $^{14}\text{CO}_2$ 呼气试验敏感度、特异度几乎接近 100%。如果仅为了明确胃内有无感染 Hp、观察抗 Hp 药物的疗效以及抗 Hp 治疗后复发或再感染的情况, ^{14}C -UBT 法应作为首选方法^[16]。 ^{13}C -UBT 价格昂贵, 不宜推广, 仅适用于儿童。

2.2 ^{15}N 排出试验是1992年我国学者吴继琼等人在国际上首创的^[17],用稳定性同位素 ^{15}N 标记的尿素作 $^{15}\text{NH}_4^+$ 排出试验,原理及作用与C标记呼气试验相同,无放射性损伤。和C呼出试验有所不同的是收集的标本不同,前者收集的是尿样,后者收集的是呼出气体。 ^{15}N -尿氮排出试验是一种有一定定量意义的敏感性与特异性均高的Hp感染体内诊断试验。

2.3 免疫学方法检测。通过测定血清中的Hp抗体来检测Hp感染,有许多学者^[18-21]在Hp血清学检测方面作了深入研究,并一致认为血清学检测对Hp感染的诊断和治疗有重要意义。血清学检测主要检测Hp抗体,包括Hp IgG、Hp IgM、Hp-VacA/CagA-IgG,方法有ELISA、免疫斑点或金标法、Hp免疫印迹法。Hp抗体检测的优点是不受近期用药的影响,可反映一段时间内Hp的感染情况。但由于Hp抗体滴度一般需经Hp根除3个月至半年后才明显下降,所以不能很好地反映Hp的现症感染情况,仅可以作为未曾接受过Hp根除治疗患者起始的诊断方式,不能用于检测患者Hp是否已被根除,特异性和敏感性均较差。免疫学检查除了检测血液中的抗体外,还可检测唾液、胃液、尿液中的抗体,由于准确性有限,在儿童的临床应用受到限制^[22]。但新一代的血清学检测较以前已经有了长足的改进,具有简便、快捷、价廉和无痛苦并且可以重复检测等优点^[18]。刘和录等^[23]使用一种新的Hp抗体检测试剂,该试剂既可检测Hp Ig抗体,又可检测现症感染标志物,除具有血清学检测的一般优点外,还可提示是否为现症感染,弥补了传统检测试剂的不足。该试剂的敏感性、特异性、阳性预示值、阴性预示值分别为95.7%、92.4%、93.6%、94.8%,表明该试剂各种性能指标良好,具有很高的临床应用价值,值得推广应用。Hp免疫学检测方法中最引人注目的进展是粪便Hp抗原(hpsa)试验,主要根据是人胃上皮细胞每1~3d更新一次,在其更新过程中,这些上皮细胞及其在其表面定植的Hp脱落后经幽门至小肠和大肠,随粪便排出体外,因此可用抗Hp抗体方法检测粪便中的抗原。而粪便标本极易获得,具有快速、简便、标本易收集等优点。张天哲等^[24]采用Meta分析的方法评价幽门螺杆菌粪便抗原诊断儿童Hp感染的价值,认为粪便抗原检测儿童及青少年Hp感染的方法准确度较高。张丽等^[25]对我国开展的粪便抗原检测诊断Hp感染的结果进行综合评价,结果灵敏度为94%~95.57%、特异度93.17%~94%,与其他两种非侵入性检查Meta分析相比,粪便抗原检测的特异度高于血清学检测的特异度(87.7%),灵敏度与其相近;但低于 ^{13}C 尿素呼气试验的灵敏度(95.49%)和特异度(94.76%)。粪便Hp抗原试验可用来诊断儿童和成年人的Hp感染,不仅对筛选Hp感染患者有用,还可以用来监测Hp根治的疗效观察,尤以治疗后4周准确性最高^[26],但尚无充足的依据推广临床应用^[27]。

3 其他检测

其他的检测Hp的方法还有:让患者吞入系统胶囊以收集胃内黏液,再通过涂片和尿素酶试验检测黏液内的Hp,发

现其特异性、敏感性也很高。用一种添加了尿素的pH指示剂的酚红,使Hp染色,通过内镜观察Hp在人胃内的分布情况,应用本法的30例胃溃疡患者中26例色素撒布后立即见到发红现象,全部病例都可在发红的部位检出Hp。气相色谱分析法能对Hp菌体脂肪酶化学结构中DNA的碱基(G+C)含量进行分析,能测定Hp菌株的属性,在科研和临床上都具有实际指导作用;用DNA杂交技术检测Hp,其特异性好,有发展前途^[28,29]。

综上所述,Hp的检测有很多种方法,各有优缺点。临床应用上,一般主张血清学检测作为筛查手段,尿素酶试验作为快速诊断,活检组织检查和细菌培养作为确诊方法,由于耐药菌株的增加,培养与药敏显得尤为重要,组织学检查和 ^{13}C 、 ^{14}C 呼吸试验用于确定经治疗后Hp是否根除。为了提高阳性率和准确性,最好能同时使用几种检查方法,取长补短。随着医学研究的不断深入,Hp的检测方法必将不断取得突破性进展。

参考文献

- 1 张爱军,张晓艳.几种常用幽门螺杆菌检测方法的合理应用[J].中国现代药物应用,2009,3(4):111-112.
- 2 岑章建,陈才.临床幽门螺杆菌的检测方法与评价[J].井冈山医学学报,2008,15(5):49-50.
- 3 赵志泉,徐顺福.幽门螺杆菌的诊断方法与评价[J].实用老年医学,2000,14(2):65-67.
- 4 中华医学会消化病学分会.第三次全国幽门螺杆菌感染若干问题共识报告[J].胃肠病学,2008,13(1):42-46.
- 5 胥维勇,杨红,杨群,等.幽门螺杆菌实验室检测与应用价值[J].实用医技杂志,2007,14(9):1127-1128.
- 6 同伟,曹建彪.胃幽门螺杆菌检测技术进展[J].世界华人消化杂志,2009,17(15):1527-1533.
- 7 辛强.改良Warthin-Starry银染色法在幽门螺杆菌检测中的应用[J].中国卫生检验杂志,2008,18(11):2345.
- 8 Piccolomini R, Bonaventura G, Neri M, et al. Useful Leifson staining method in diagnosis of helicobacter pylori infection[J]. J Clin Microbiol, 1999, 37(1):199-201.
- 9 姜浩. PCR技术在幽门螺杆菌检测中的应用[J].中华实用医药杂志,2004,4(2):2.
- 10 Datta S, Chattopadhyay S. Diagnosis and genotyping of Helicobacter pylori by polymerase chain reaction of bacterial DNA from gastric juice[J]. Gastroenterol Hepatol, 2005, 20(8):1253-1259.
- 11 Han FC, Ng HC, Ho B. Stability of randomly amplified polymorphic DNA fingerprinting in genotyping clinical isolates of Helicobacter pylori[J]. Gastroenterology, 2003, 9(9):2021-2024.
- 12 Can F, Yilmaz Z, Demirbilek M. Diagnosis of Helicobacter pylori infection and determination of clarithromycin resistance by fluorescence in situ hybridization from formalin-fixed, paraffin-embedded gastric biopsy specimens[J]. Can J Microbiol, 2005, 51(7):570.
- 13 Campuzano-Maya G. An optimized ^{13}C -urea breath test for the diagnosis of H pylori infection. School of Medicine, University of Antioquia, Medellin, Colombia [J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(41):5454.

- 14 Raju GS, Smith MJ, Morton D, et al. Mini-dose (^{14}C -urea) breath test for the detection of helicobacter pylori[J]. Am J Gastroenterol, 1994, 89(7):1027-1031.
- 15 徐克强, 周殿元, 杨海涛, 等. 微量 ^{14}C -尿素胶囊呼吸试验检测幽门螺杆菌感染[J]. 解放军医学杂志, 1996, 21(5):336-338.
- 16 戴光辉. ^{14}C 呼气试验及血清抗幽门螺杆菌试验在幽门螺杆菌检测中的价值分析[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(18):1587.
- 17 刘全高, 刘文阁, 宴会娟, 等. 幽门螺杆菌检测方法与评价[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2008, 11(2):276-277.
- 18 周培霞, 鲁莹, 吴艳妹, 等. 第三代血清 Hp 抗体检测的应用价值[J]. 中国医师杂志, 2002, 04(06):686.
- 19 杨来智, 张银辉, 张小艳, 等. 幽门螺杆菌抗体谱检测及其对消化道疾病诊治的意义[J]. 中国热带医学, 2006, 6(5):777-778.
- 20 吴向东, 刘东林. 血清 Hp 抗体检测在幽门螺杆菌相关性上消化道疾病中的价值[J]. 赣南医学院学报, 2005, 25(6):824-825.
- 21 张杰, 王冬娥, 米贤军, 等. 消化性溃疡幽门螺杆菌(Hp)清除前后血 Hp 抗体、PG、GAS 变化的研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2006, 5(7):869-870.
- 22 Koletzko S. Noninvasive diagnostic tests for helicobacter pylori infection in children[J]. Can J Gastroenterol, 2005, 19(7):433-439.
- 23 刘和录, 徐志康, 罗丽燕, 等. 一种可提示现症感染幽门螺杆菌检测试剂的应用评价[J]. 实用预防医学, 2009, 16(4):1232-1233.
- 24 张天哲, 张铁民, 韩健, 等. 粪便抗原检测儿童及青少年幽门螺杆菌感染诊断试验的系统评价[J]. 世界华人消化杂志, 2009, 7(4):405-410.
- 25 张丽, 张建中. 中国检验幽门螺杆菌感染方法诊断效能的分析[J]. 世界华人消化杂志, 2007, 15(6):649-654.
- 26 王化冰, 林三仁, 周丽雅, 等. 幽门螺杆菌粪便 Hp 抗原试验检测幽门螺杆菌感染的临床评价[J]. 中华消化杂志, 2005, 25(1):15-18.
- 27 Bourke B. Canadian helicobacter study group consensus conference: update on the approach to helicobacter pylori infection in children and adolescents-an evidence-based evaluation[J]. Can J Gastroenterol, 2005, 19(7):399-408.
- 28 Russmann H, Feydt-Schmidt A, Adler K, et al. Detection of helicobacter pylori in paraffin-embedded and in shock-frozen gastric biopsy samples by fluorescent in situ hybridization[J]. J Clin Microbial, 2003, 41(2):813-815.
- 29 Feydt-Schmidt A, Russmann H, Lehn N, et al. Fluorescence in situ hybridization vs. epsilometer test for detection of clarithromycin-susceptible and clarithromycin-resistant helicobacter pylori strains in gastric biopsies from children[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2002, 16(12):2073-2079.

[收稿日期 2010-04-22][本文编辑 宋卓孙 韦颖]

《中国临床新医学》杂志征集广告启事

《中国临床新医学》杂志是经中华人民共和国新闻出版总署批准出版、由中华人民共和国卫生部主管、由中国医师协会和广西壮族自治区人民医院共同主办的国家级医学学术性科技期刊(国内统一连续出版物号为 CN45—1365/R, 国际标准刊号为 ISSN1674—3806, 邮发代号为 48—173, 月刊, 国内外公开发行)。办刊宗旨为:报道国内外医学科学的最新研究成果, 传播医学科学的最新理论和信息, 交流医学科学的最新经验, 介绍医学科学的最新技术。主要读者对象为广大的医疗卫生业务技术人员和医院管理工作。

本刊征集承接各种、各类宣传广告, 包括医疗机构介绍, 医药卫生产品、药品、医疗器械、医疗耗材、保健食(药)品及保健酒(茶)类等。热情欢迎广大医疗机构、厂家、商家、销售代表和代理商来人、来电、来函联系商谈广告业务; 欢迎有关单位(个人)承包代理广告业务; 欢迎广大医务人员协助推介联系广告业务。本刊将按照广告费用情况, 实行多种、多方式的优惠、提成、酬劳、佣金、奖励等制度。

本刊地址:广西南宁市桃源路6号广西壮族自治区人民医院内, 邮编:530021, 联系电话:0771-2186013, E-mail: zgl-cxyxzz@163.com。

广告刊发需刊登广告方提供以下相关材料:医疗机构需要提供加盖单位公章的营业执照复印件、广告审批文件复印件; 医药卫生产品、药品、医疗器械、医疗耗材、保健食(药)品、保健酒(茶)类等, 需提供加盖公司公章的“广告委托书、生产许可证、产品合格证、销售许可证、广告审批文件”等相关证明材料的复印件。

· 本刊编辑部 ·