

肝内胆管结石合并胆道感染的细菌谱

贾淑芹, 福泉, 金山

贾淑芹, 内蒙古医科大学附属医院外科实验室 内蒙古自治区呼和浩特市 010050

福泉, 内蒙古医科大学附属医院检验科 内蒙古自治区呼和浩特市 010050

金山, 内蒙古医科大学附属医院普外科 内蒙古自治区呼和浩特市 010050

贾淑芹, 副教授, 研究生导师, 主要从事消化系统肿瘤及其他消化系统疾病的基础与临床研究。

作者贡献分布: 由金山指导写作方向; 贾淑芹与福泉查询资料, 由贾淑芹完成文章写作。

通讯作者: 金山, 教授, 主任医师, 010050, 内蒙古自治区呼和浩特市通顺北街1号, 内蒙古医科大学附属医院普外科。

jinshangood@yahoo.com.cn

电话: 0471-6636914

收稿日期: 2012-07-27 修回日期: 2012-11-20

接受日期: 2012-12-03 在线出版日期: 2012-12-08

Bacterial spectrum of hepatolithiasis with biliary tract infection

Shu-Qin Jia, Quan Fu, Shan Jin

Shu-Qin Jia, Department of Surgery Laboratory, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Quan Fu, Department of Clinical Laboratory Center, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Shan Jin, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Correspondence to: Shan Jin, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, 1 Tongdao North Street, Hohhot 010050, Inner Mongolia Autonomous Region, China. jinshangood@yahoo.com.cn

Received: 2012-07-27 Revised: 2012-11-20

Accepted: 2012-12-03 Published online: 2012-12-08

Abstract

Hepatolithiasis is prevalent in Far East and Southeast Asian countries, and it is usually associated with cholestasis and bacterial infection and causes repeated episodes of acute cholangitis. If not properly treated, hepatolithiasis can cause serious complications and even death. In addition to removal of stones and management of cholestasis by surgery or interventional radiological treatment, timely and effective antibiotic treatment also plays a crucial role in the treatment of hepatolithiasis. This paper aims to clarify the bacterial spectrum of hepatolithiasis with biliary tract

infection. By reviewing relevant papers published over the past 30 years, we discovered that both gram-negative bacteria, in which *E. coli* was most frequent, followed by *Klebsiella* sp and *Pseudomonas* sp, and gram-positive bacteria, mainly *Enterococcus* sp, were responsible for biliary tract infection. *Bacteroides* sp and *Clostridium* were most frequently found anaerobes. Sometimes, anaerobes were found together with aerobes. The purpose of this article is to elaborate the bacterial spectrum of hepatolithiasis with biliary tract infection and provide the appropriate choice of antibiotic therapy.

Key Words: Bacterial spectrum; Hepatolithiasis; Biliary tract infection; Antibiotics

Jia SQ, Fu Q, Jin S. Bacterial spectrum of hepatolithiasis with biliary tract infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(34): 3349-3353

摘要

肝内胆管结石(hepatolithiasis, HL)是远东及东南亚地区盛行的疾病,通常伴有胆汁淤积和细菌感染、引起急性反复发作的胆管炎。除清除病灶、取净结石、通畅引流等核心治疗外,及时有效的抗生素应用至关重要。为阐述HL合并胆道感染的细菌谱、为临床治疗提供理论依据,我们总结了30年间国内外相关研究及我院结果,发现胆道感染主要与大肠埃希氏菌、克雷伯菌、假单胞菌等革兰氏阴性菌及粪肠球菌等革兰氏阳性菌有关,有时厌氧菌和需氧菌合并感染。

关键词: 细菌谱; 肝内胆管结石; 胆道感染; 抗生素

贾淑芹, 福泉, 金山. 肝内胆管结石合并胆道感染的细菌谱. *世界华人消化杂志* 2012; 20(34): 3349-3353

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/3349.asp>

0 引言

肝内胆管结石(hepatolithiasis, HL)是指左右肝管汇合部以上各胆管内的结石,成分主要是胆红素钙结石^[1]。他可以单独存在,也可以与肝外胆管结石并存。HL急性期并发症主要是胆道感染,

■背景资料

肝内胆管结石急性期常合并胆道感染,如不经正确治疗,患者将发生严重的感染性并发症,继而发生胆管坏死、门静脉高压症,或者死于肝功能衰竭或败血症。因此,了解其细菌谱并提供适当的抗生素治疗选择尤为重要。

■同行评议者

王德盛, 副主任医师, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

■ 研发前沿

肝内胆管结石合并胆道感染的细菌谱在过去的30年来虽然没有较大变化,但是在不同地域,由于抗生素应用的规范程度不同,细菌的耐药性却不甚明了。

感染可能来源于细菌,还包括真菌、寄生虫、病毒等。如不经正确治疗,患者将发生重症肝胆管炎、胆源性肝脓肿及伴随的感染性并发症^[2],继而发生胆管坏死、门静脉高压症,或者死于肝功能衰竭或败血症^[1,3]。清除病灶、取净结石、去除狭窄、通畅引流及介入治疗是HL最有效的治疗方法。然而及时有效的抗生素治疗也至关重要,但HL合并胆道感染的细菌谱较为复杂。本文追溯过去30年间的国内外相关文献,结合我院细菌培养结果,旨在阐述HL合并胆道感染的细菌学信息并提供适当的抗生素治疗选择。

1 HL合并胆道感染的细菌学检测

根据细菌培养结果选用正确的抗生素是治疗的关键。在术中,切开肝内胆管之前,应用细针穿刺法,从胆总管中吸取胆汁5 mL,针头立即加帽,随即送实验室进行常规需氧和厌氧培养^[4]。需氧菌培养72 h、厌氧菌培养5 d后,如果在两种培养基中检测不到细菌克隆,结果定为阴性,如果任何一个培养基中有一个克隆的话,即为培养阳性。继续分离阳性培养基中的单个克隆培养,应用化学检测法鉴定细菌的种类。应用经内镜逆行胆管造影或经皮肝穿刺胆道造影过程中亦可收集胆汁进行常规培养,但是穿刺过程中污染在所难免^[5]。血培养是较新的创伤较小的一种检测方式,但是Sahu等^[6]研究发现,同一组标本相比胆汁中细菌的阳性检出率为92.6%、单个标本的多菌种检出率为69.5%,而血培养相应两个指标仅为26.4%和2.2%,其阳性率较胆汁培养要低得多。对于难于检测的厌氧菌,有学者应用PCR-SSCP的方法检测,结果准确、迅速^[7]。此外,术中取出结石,以生理盐水反复冲洗掉表面的污染物之后,将结石研碎成粉末后平铺于培养瓶表面进行培养,其他的步骤与细菌培养相同^[8]。扫描电镜、透射电镜也应用到胆石细菌的检测中^[8]。

2 HL合并胆道感染的细菌谱

HL在欧美国家的发病率逐渐增高,并且该病手术治疗及并发症方面的处理也日臻成熟^[9-11]。但在细菌谱方面的研究不多见。早在20世纪80年代,美国学者Tabata研究发现,当时与日本及东亚国家的情况相似,美国HL患者并发胆道感染的发生率非常高,达96.3%(52/54),在胆汁培养的细菌中,检出频率最高的依次为:大肠埃希杆菌、克雷伯菌、链球菌、绿脓杆菌^[1]。由于在胆

红素钙结石病例中能够频繁地分离出大肠杆菌,因此大肠杆菌被认为是导致胆红素钙结石形成的罪魁祸首。

在日本、韩国及中国香港,HL分别以原发性HL、复发性化脓性胆管炎及东方肝胆结石病,即同一疾病的不同方面来称谓。原发性HL指病理变化,复发性化脓性胆管炎强调临床表现和化脓性炎症,东方肝胆结石病突出其民族偏好和神秘性。20世纪80年代末,亚洲的学者也开始了本病的细菌谱研究,Fu等^[12]在74.0%的病例中均检测到厌氧菌,以杆菌为主,而98.0%的病例都为需氧菌感染。针对厌氧菌感染,当时的抗生素以甲硝唑为首选。日本学者指出在所分离出来的需氧菌中,主要为大肠杆菌和克雷伯菌,还包括混合感染。而厌氧菌不多见,一般都与需氧菌混合出现,并强调胆汁应在经皮肝穿刺胆道造影中吸取出来后立即培养^[13]。对于一些对培养条件比较挑剔的病原体,如难于培养的厌氧菌中的梭菌和脆弱拟杆菌,可用PCR及SSCP法检测,Liu等^[7]发现分别有83%和42%的阳性率,而且这种检测方法较培养法更方便快捷。对我院近5年123例肝内胆管结石患者胆汁标本进行培养,细菌阳性率为69.1%(85/123),共获得149株病原菌。其中排在前三位的细菌分别是大肠埃希菌(32.2%)、肠球菌(20.8%)、克雷伯菌(11.4%)、假单胞菌(7.4%)、肠杆菌(6.0%)。台湾Chang等^[14]总结了10年的病例,对1394例胆道感染患者的细菌谱进行了分析,其中肝内结石患者的胆汁细菌阳性培养率为67%,是入组所有胆道疾病,包括胆囊结石、胆总管结石中阳性率最高的。其中合并胆管炎的细菌培养阳性率远远高于无胆管炎者(75% vs 51%, $P=0.011$)。细菌谱以革兰氏阴性菌(74%)为主,主要为大肠埃希杆菌(36%)、克雷伯氏菌(15%),革兰氏阳性菌(15%)中,主要为肠球菌(6%)、葡萄球菌、链球菌。偶尔发现的厌氧菌以类杆菌和梭菌为主。混合型需氧菌、混合型厌氧菌及混合厌氧需氧菌的发生频率分别为7%、12%和9%。李绍强等^[15]在胆汁标本中共获得141株细菌,分别归属于18个菌属,革兰阴性菌共87株(61.7%),革兰阳性菌共54株(38.3%)。检出细菌中构成比最高的前4位菌属分别是大肠埃希杆菌属43株(30.5%)、粪肠球菌属42株(29.8%)、单胞菌属21株(14.9%)、克雷伯菌属12株(8.5%)。Wu等^[8]分别应用胆汁及结石的细菌培养,鉴定了两者检测的阳性率相近,细菌谱排在前三位的分别是球菌、大肠埃希

■ 创新盘点

本文总结了国内外肝内胆管结石合并胆道感染的相关文章,对该并发病的细菌谱及其抗生素应用进行了述评。

表 1 肝内胆管结石合并胆道感染的细菌谱

细菌	胆汁内阳性率(%)
<i>Aerobes</i>	
<i>Escherichia coli</i>	30.5-36.0
<i>Klebsiella</i>	8.5-15.0
<i>Enterobacter</i>	5.0-9.1
<i>Pseudomonas</i>	0.5-14.9
<i>Streptococcus spp.</i>	3.0-10.0
<i>Enterococcus faecalis</i>	2.6-29.8
<i>Anaerobes</i>	
<i>Clostridium</i>	3.0-12.7
<i>Bacteroides</i>	0.5-8.0

氏菌及克雷伯氏菌。2000年, Sheen-Chen等^[4]做了一项150例HL患者的胆汁细菌分析, 结果发现, 所有患者的胆汁中均有细菌感染, 主要为革兰氏阴性菌, 如克雷伯氏菌、大肠埃希杆菌、假单胞菌; 革兰氏阳性菌主要为肠球菌, 类杆菌是厌氧菌中最多的。由于发现的肠道菌群居多, 因此一旦HL患者出现急性胆管炎的症状时, 首先要应用抗肠道菌群的抗生素控制症状, 然后再逐渐根据细菌培养的结果及相应的临床症状调整治疗方案。现将细菌谱归纳如下(表1)。

总体来讲, 30年来, 胆道感染的细菌谱在时间和地域上没有较大变化, 需氧菌中大肠埃希杆菌、克雷伯氏菌、肠球菌、链球菌、肠杆菌较为常见, 而厌氧菌以梭菌和类杆菌为常见, 一般厌氧菌都是伴随着需氧菌存在的。一旦多种细菌联合感染者, 患者容易爆发急性胆管炎^[16]。另外, 对于继发急性胆管炎的患者还要考虑是社区获得还是院内继发感染。当患者为社区获得, 一般的致病菌为大肠杆菌、肺炎克雷伯菌和肠球菌, 如果是院内感染, 通常都是术后引流或者留置支架的患者, 这时要考虑的一般是多药耐药的菌群: 如甲氧西林耐药菌的金黄色葡萄球菌、万古霉素耐药的肠球菌和假单胞菌等。

3 HL合并胆道感染的抗生素应用

临床上, 一旦诊断HL合并胆道感染, 先凭经验选择广谱的抗菌剂, 另一方面做细菌培养及药敏实验, 而且要认真考虑以下几种因素^[16]: (1)药物对于致病菌的抗菌活性; (2)胆道感染的严重程度; (3)是否同时存在肝肾疾病; (4)近一年来使用抗生素的病史; (5)当地的抗菌谱; (6)抗菌药物的胆道渗透性。使用当地经验性抗菌药物时, 应将抗菌谱缩到最窄, 尽量避免因“超级感染”或

者细菌耐药导致治疗失败。根据胆汁和血液中细菌培养及药敏实验结果, 认真选择抗菌药物是进一步治疗的关键。中到重度急性胆道感染的患者应该接受至少5-7 d的治疗, 治疗过程中, 根据疾病的解剖学特点、有无细菌培养阳性以及临床反应, 需要适当地延长治疗周期, 而对于大多数患者来说, 一般程度的胆道感染仅需要2-3 d的抗生素治疗, 长时间抗炎治疗会增加细菌耐药的风险。

对于HL合并胆道感染又有胆管梗阻的患者, 要考虑到胆管梗阻会影响抗菌药物的吸收。因此, 一旦发生胆道梗阻, 经胆管吸收的药物都无法进入胆道, 需要给药同时行胆道引流, 解除梗阻, 一旦引流畅通, 药物会立即充分吸收^[17]。

那么, 药物的剂量该如何调节? 药物剂量应调整至对患者肝功、肾功能的影响最小。关于药物剂量的调整, 可参考“桑福德的抗生素治疗指导”和“古德曼、吉尔曼的药物治疗基础^[18]”, 现将总结的参考药物做一归纳^[16,19](表2)。

但是在治疗方案的选择上, 由于各种原因不可能完全遵照以上进行。近30年来, 细菌耐药的情况在一些抗生素应用普遍及滥用的国家和地区逐渐变得严重。2000年, Sheen-Chen等^[4]认为大多数的需氧革兰氏阴性菌对氨基糖甙类药物均敏感、变形杆菌、大肠杆菌、克雷伯菌对头孢噻吩、头孢孟多均敏感; 肠球菌、链球菌对氨苄西林、青霉素敏感; 大多数厌氧菌对哌拉西林、替卡西林敏感。随着临床常用抗菌药物的耐药性明显增加, 单一的抗生素治疗胆道感染往往不够有效^[5]。2002年, 美国仍然应用经典的治疗方案, 使用青霉素类如氨苄西林, β -内酰胺酶抑制剂舒巴坦及氨基糖苷类药物^[9], 在我国已经发现细菌对青霉素类、头孢类、喹诺酮类、大环内酯类抗生素敏感性普遍下降, 对 β -内酰胺类抗生素亚胺培南、美罗培南、万古霉素类、新糖肽类抗生素替考拉宁仍保持相当高的敏感性。万古霉素已是所谓的最后一线药物, 由于抗生素过于滥用, 甚至已出现了可抵抗万古霉素的细菌, 如万古霉素抗药性肠球菌, 造成传染病及感染性疾病防治的隐患。在印度, 近年来对抗生素的使用情况亦与中国相仿, 第3代头孢菌素和喹诺酮类的环丙沙星也已成为治疗HL合并胆道感染的无效药物^[6]。

一般来说, 血培养出的细菌种属与胆汁培养的种属大致相同, 血液中细菌培养阳性率为21%-71%, 患有菌血症的患者通常对治疗方案

■应用要点

本文详细阐述了肝内胆管结石合并胆道感染的细菌谱及不同地域的抗生素选择, 对该并发症的治疗具有指导意义。

■名词解释

耐药性: 又称抗药性, 指微生物、寄生虫以及肿瘤细胞对于化疗药物作用的耐受性, 耐药性一旦产生, 药物的化学作用就明显下降。

表 2 肝内胆管结石合并轻到中度胆道感染推荐用药

	代表药物
合并轻中度胆道感染	
第一代头孢菌素	头孢唑林钠
第二代头孢菌素	头孢美唑、头孢替安、拉氧头孢钠、氧氟头孢钠
青霉素/β-内酰胺酶抑制剂	氨苄西林/舒巴坦
合并中重度感染	
首选	
广谱青霉素/β-内酰胺酶抑制剂(作为单剂使用)	氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦
第三、四代头孢菌素	头孢哌酮/舒巴坦、头孢三嗪、头孢他啶
单酰胺环类	氨基南
上面任一种+甲硝唑(治疗厌氧菌)	
次选	
氟喹酮类	环丙沙星、左氧氟沙星、帕珠沙星
上面任一种+甲硝唑(治疗厌氧菌)	
碳青霉烯类	美罗培南、亚胺培南/西拉司丁钠、多尼培南

耐药, 也是患者住院周期长、术后肾衰竭、死亡率高的主要原因, 这些发现都着重强调了抗败血症、菌血症治疗的重要性。另外合并多种细菌感染, 尤其是厌氧菌合并需氧菌感染的情况下, 如不及时治疗, 患者的预后较差。

4 结论

随着居民生活环境、生活方式及饮食习惯改变, HL的发病率在逐年降低, 但是HL合并感染的临床凶险是不容忽视的。HL合并胆道感染的细菌谱, 需氧菌中大肠埃希氏菌、克雷伯氏菌、肠球菌、链球菌、肠杆菌较为常见, 而厌氧菌以梭菌和类杆菌为常见, 一般厌氧菌都是伴随着需氧菌存在。临床经验性给药时, 由于致病菌多为革兰氏阴性菌, 故而一般首先考虑应用革兰氏阴性菌敏感的抗生素, 同时进行胆汁、血液样本检测, 明确感染病菌。针对性抗菌药物的治疗, 避免进一步耐药菌株的产生^[20]。如给药3-5 d后, 临床症状改善不明显的患者, 应考虑到合并有革兰氏阳性菌感染, 此时可改用或加用针对革兰氏阳性菌敏感的抗生素。需要指出的是, 如果临床经验性抗生素治疗效果较好, 细菌培养结果不明确时, 可在严密观察下继续原方案进行处理, 也能取得较好的结果。

5 参考文献

- 1 Tabata M, Nakayama F. Bacteriology of hepatolithiasis. *Prog Clin Biol Res* 1984; 152: 163-174
- 2 李秉路, 郑朝纪, 刘卫, 洪涛, 徐协群, 何小东, 张震寰, 张建希, 赵玉沛. 结石性急性胆管炎的治疗. *中国医学科学院学报* 2011; 33: 88-91

- 3 Nakanuma Y. Tutorial review for understanding of cholangiopathy. *Int J Hepatol* 2012; 2012: 547840
- 4 Sheen-Chen S, Chen W, Eng H, Sheen C, Chou F, Cheng Y, Lee T. Bacteriology and antimicrobial choice in hepatolithiasis. *Am J Infect Control* 2000; 28: 298-301
- 5 Negm AA, Schott A, Vonberg RP, Weismueller TJ, Schneider AS, Kubicka S, Strassburg CP, Manns MP, Suerbaum S, Wedemeyer J, Lankisch TO. Routine bile collection for microbiological analysis during cholangiography and its impact on the management of cholangitis. *Gastrointest Endosc* 2010; 72: 284-291
- 6 Sahu MK, Chacko A, Dutta AK, Prakash JA. Microbial profile and antibiotic sensitivity pattern in acute bacterial cholangitis. *Indian J Gastroenterol* 2011; 30: 204-208
- 7 Liu Y, Lam K, Tang YJ, Gumerlock PH, Lee DK, Kim MH, Lee SP, Silva J, Leung JW. Anaerobic bacteria and intrahepatic stones: detections of *Clostridium* sp. and *Bacteroides fragilis*. *Chin Med J (Engl)* 2000; 113: 858-861
- 8 Wu SD, Yu H, Sun JM. Bacteriological and electron microscopic examination of primary intrahepatic stones. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2006; 5: 228-231
- 9 Al-Sukhni W, Gallinger S, Pratzler A, Wei A, Ho CS, Kortan P, Taylor BR, Grant DR, McGilvray I, Cattral MS, Langer B, Greig PD. Recurrent pyogenic cholangitis with hepatolithiasis--the role of surgical therapy in North America. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 496-503
- 10 Catena M, Aldrighetti L, Finazzi R, Arzu G, Arru M, Pulitanò C, Ferla G. Treatment of non-endemic hepatolithiasis in a Western country. The role of hepatic resection. *Ann R Coll Surg Engl* 2006; 88: 383-389
- 11 Kayhan B, Akdoğan M, Parlak E, Ozarslan E, Sahin B. Hepatolithiasis: a Turkey experience. *Turk J Gastroenterol* 2007; 18: 28-32
- 12 Fu HQ. Anaerobes in biliary tract infection. *Zhonghua Waikao Zazhi* 1989; 27: 454-456, 507
- 13 Suzuki Y, Kobayashi A, Ohto M, Tsuchiya Y, Saisho H, Kimura K, Ono T, Okuda K. Bacteriological study of transhepatically aspirated bile. Relation to cholangiographic findings in 295 patients. *Dig Dis*

- Sci 1984; 29: 109-115
- 14 Chang WT, Lee KT, Wang SR, Chuang SC, Kuo KK, Chen JS, Sheen PC. Bacteriology and antimicrobial susceptibility in biliary tract disease: an audit of 10-year's experience. *Kaohsiung J Med Sci* 2002; 18: 221-228
- 15 李绍强, 梁力建, 华赞鹏, 彭宝岗, 付顺军, 汪谦. 肝内胆管结石患者胆汁的细菌谱及临床意义. *中华普通外科学文献(电子版)* 2009; 3: 313-316
- 16 Tanaka A, Takada T, Kawarada Y, Nimura Y, Yoshida M, Miura F, Hirota M, Wada K, Mayumi T, Gomi H, Solomkin JS, Strasberg SM, Pitt HA, Belghiti J, de Santibanes E, Padbury R, Chen MF, Belli G, Ker CG, Hilvano SC, Fan ST, Liau KH. Antimicrobial therapy for acute cholangitis: Tokyo Guidelines. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2007; 14: 59-67
- 17 Sales JE, Sutcliffe M, O'Grady F. Excretion of clindamycin in the bile of patients with biliary tract disease. *Chemotherapy* 1973; 19: 11-15
- 18 Gilbert DN, Moellering RC, Sande MA. *The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy*, 2003. 33rd ed. Hyde Park, Vt Antimicrobial Therapy Inc. 2003; 123-124
- 19 蔡秀军, 刘金钢, 张学文. 胆道感染及其处理原则. *中国实用外科杂志* 2011; 31: 877-879
- 20 Cai XJ, Wang YF, Liang YL, Yu H, Liang X. Laparoscopic left hemihepatectomy: a safety and feasibility study of 19 cases. *Surg Endosc* 2009; 23: 2556-2562

■同行评议
本文总结30年间国内外相关研究及作者所在医院胆道感染的细菌谱, 对临床医师有一定的参考价值。

编辑 李军亮 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: … 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则¹ $P < 0.05$, ² $P < 0.01$; 第3套为³ $P < 0.05$, ⁴ $P < 0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应在表的右上方, 表内个数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5 \text{ cm} \times 4.5 \text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5)致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.