

幽门螺杆菌 5 种检测方法的比较

杨晓扬¹ 李艳² 罗海波¹ 刘运周¹ 姚尚彦¹ 沙建平¹

1. 解放军第 421 医院, 广东 广州 510318; 2. 南方医科大学附属何贤纪念医院, 广东 广州 511400

摘要: 目的 通过对 5 种幽门螺杆菌检测方法的比较, 为临床选择检测方法提供参考。方法 检查前留取粪便标本, 检查时在胃窦和胃体钳取黏膜组织并抽血 2 ml, 采用快速尿素酶试验法、胃黏膜组织染色法、血清抗体检测法、¹³C-尿素呼气试验(¹³C-UBT) 和粪便抗原(HpSA) 检测法对 458 例消化道疾病患者进行幽门螺杆菌检测, 比较不同方法的敏感度、特异度、准确度以及与诊断标准的吻合度。结果 在 5 种检测方法中, 病理切片染色的灵敏度最高, 达 0.983, 血清抗体检测灵敏度最低, 仅为 0.899, 总体差异有统计学意义($P < 0.05$); ¹³C-UBT 特异度最高, 达 0.906, 血清抗体检测特异度最低, 只有 0.801, 总体差异有统计学意义($P < 0.05$); ¹³C-UBT 准确度最高, 为 0.951, 各方法总体差异有统计学意义($P < 0.05$); 5 种方法的 k 值均 > 0.8 。结论 5 种方式均为幽门螺杆菌的有效检测方法, 其中 ¹³C-UBT 具有较高的诊断价值, 临床应用时需结合个体情况选择合适的检测方法。

关键词: 幽门螺杆菌; 检测; 灵敏度; 特异度

中图分类号: R446.5

文献标识码: A

文章编号: 1004-8685(2015)11-1758-03

Comparison of 5 different detection methods for *Helicobacter pylori*

YANG Xiao-yang^{*}, LI Yan, LUO Hai-bo, LIU Yun-zhou, YAO Shang-yan, SHA Jian-ping

^{*} The 421th Hospital of PLA, Guangzhou, Guangdong 510318, China

Abstract: Objective To provide reference for clinical detection method choosing by comparing to the detection methods of *Helicobacter pylori* (Hp). **Methods** Before the examination, to sample stool specimens; during inspection, from the mucosal tissue of gastric antrum and body of stomach, to sample blood 2 ml with clamp. By rapid urease test, gastric mucosa staining, serum antibody detection method, ¹³C urea breath test (¹³C-UBT) and stool antigen (HPSA) detection method, 458 cases of gastrointestinal diseases were detected for *Helicobacter pylori*, and to compare the sensitivity, specificity, accuracy and the degree of agreement with diagnostic criteria in different methods. **Results** The W-S section staining had the highest sensitivity (0.983), the ELISA technique had the lowest sensitivity (0.899). The difference was statistically significant ($P < 0.05$). The ¹³C-UBT had the highest specificity (0.906), the ELISA technique had the lowest specificity (0.801). The difference was statistically significant ($P < 0.05$). ¹³C-UBT also had the highest accuracy (0.951), the difference was statistical significant ($P < 0.05$). The Kappa value was more than 0.8 of all methods. **Conclusion** All the 5 methods are effective to Hp detection, among them ¹³C-UBT has the highest diagnostic value. Individual condition should be considered during clinical application.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Detection; Sensitivity; Specificity

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, Hp) 的感染与多种胃肠道疾病和胃肠道外疾病密切相关, 准确检测和判断 Hp 感染能为疾病的诊断和治疗提供重要依据^[1]。目前用于 Hp 感染检测的方法包括侵入性和非侵入性两大类, 每一类又有多种不同的方法, 各种方法的使用各有其优缺点^[2]。本试验采用 5 种常用的检测方法对 Hp 感染进行检测, 并对各种方法的特点进行全面比较, 为合理选择检测方法提供依据。

1 资料与方法

1.1 资料 以 2013 年 1 月-2014 年 6 月因消化系统疾病接受胃镜检查的 458 例患者为研究对象, 其中

男性 213 例, 女性 245 例, 年龄为 15 岁~83 岁, 平均年龄为 (37.8 ± 4.3) 岁。患者无胃部手术史, 4 周内未服用抗菌药或铋剂, 2 周内未服用抑酸剂。在接受胃镜检查时, 在胃窦和胃体各钳取 1 块黏膜, 胃镜检查后抽取血液标本。

1.2 方法

1.2.1 检测方法 分别采用 5 种方法进行检测, 包括快速尿素酶试验 (RUT): 采用快速尿素酶试验药盒 (福建三强生物化工有限公司, 批号: HpUT-H104), 先作好底物酶标记, 再将 2 滴酶促反应液滴入酶标反应孔, 完全溶解药膜后将标本置于溶解药液中 10 °C ~ 30 °C 孵育 5 min, 孵育完成后观察结果, 试剂由黄变红为阳性。胃黏膜组织切片染色 (W-S 染色): 进行 Warthin-Starry 银染色处理, 油镜下观察, 发现褐色、棕色弯曲状为 Hp 感染。¹³C 碳素呼气试验 (¹³C-UBT): 采用尿素 [¹³C] 片呼气试验药盒 (北京

作者简介: 杨晓扬 (1981-), 男, 硕士, 主管技师, 主要从事临床检验工作。

通讯作者: 沙建平, E-mail: shajianping99@sina.com

优你特药业有限公司,批号: H20080254) 检测患者口服¹³C-尿素胶囊前后 30 min 内呼出的气体。HpSA 检测:应用幽门螺旋杆菌抗原快速检测条(北京荣志海达生物科技有限公司,批号: P740001A) 定性检测粪便中的幽门螺旋杆菌,膜上的特异性抗体捕获到有色结合物时检测区呈现红色条带,视为阳性结果。血清 Hp 抗体检测:采用幽门螺旋杆菌尿素酶抗体检测试剂盒(胶体金法)(上海卒瑞生物科技有限公司,批号: Y13391A) 按照说明书严格操作,质控线、CIM 线和测试线都显示颜色者为阳性结果。

1.2.2 观察指标 诊断标准:有 2 种或 2 种以上检测方法结果为阳性者确认为感染患者。观察感染例数和男女感染比例,比较每种方法的敏感度、特异度、准确度以及与诊断标准的吻合度。

1.3 统计学处理 所有数据以 SPSS 16.0 统计软件处理,计数资料灵敏度、特异度和准确度,采用 ROC 曲线检验,多个率的比较采用 R × C 表进行 χ^2 检验,吻合度采用 Kappa 系数检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hp 感染情况 在 458 例受检者中,共检出 287 例 Hp 感染,占 62.7%,另有 171 例未检出 Hp,占 37.3%。在感染者中,男性 139 例,占受检男性总数的 65.3%;女性 148 例,占受检女性总数的 60.4%,两者比较差异无统计学意义($\chi^2 = 1.021, P = 0.063$)。

2.2 各检测方法比较 5 种检测方法中,病理切片染色的灵敏度最高,达 0.983,血清抗体检测灵敏度最低,为 0.899,总体差异有统计学意义($P < 0.05$);¹³C-UBT 特异度最高,达 0.906,血清抗体检测特异度最低,为 0.801,总体差异有统计学意义($P < 0.05$);¹³C-UBT 准确度最高,为 0.951,各方法总体差异有统计学意义($P < 0.05$);5 种方法的 k 值均 > 0.8 (表 1)。病理染色切片见图 1。

表 1 不同检测方法的比较

分组	灵敏度 ^a	特异度 ^b	准确度	k 值
RUT	0.930(267)	0.860(147)	0.904	0.853
病理切片染色	0.983(282)	0.895(153)	0.949	0.913
¹³ C-UBT	0.979(281)	0.906(155)	0.951	0.921
HpSA	0.937(269)	0.830(142)	0.897	0.838
血清抗体	0.899(258)	0.801(137)	0.862	0.802
χ^2 值	27.739	10.821	16.894	
P 值	0.000	0.029	0.002	

注: a、b 表示括号内为实际病例数。

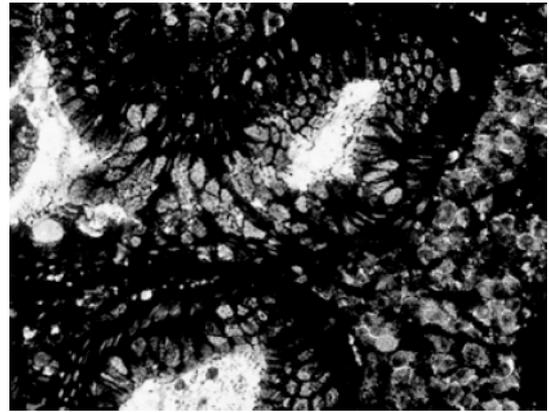


图 1 Hp 感染(W-S 银染色, ×1000)

3 讨论

1982 年,澳大利亚的 Marshall 和 Warren 首次从胃镜活检标本中分离出幽门螺旋杆菌,现已明确 Hp 感染与慢性胃炎、低度恶性胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤、消化性溃疡和胃癌有密切关系^[3]。早发现、早诊断、早治疗 Hp 感染,对上述疾病的防治具有重要意义,因此近年来对 Hp 的检测受到广泛关注^[4]。

目前临床上常用的 Hp 检测方法包括侵入性和非侵入性两大类。侵入性依赖胃镜活检,在胃镜检查的基础上利用快速尿素酶试验、胃黏膜直接涂片染色或胃黏膜组织切片染色(HE 染色、改良 Giemsa 染色、Warthin-Starry 银染、吡啶橙染色、甲苯胺蓝染色、免疫组化染色等)、细菌培养和基因检测方法(PC 寡核苷酸探针杂交等)。非侵入性检测方法无需借助胃镜,主要有¹³C-UBT 或¹⁴C-UBT、血清 Hp 抗体检测、HpSA 检测以及唾液测试板(HSP)等^[5]。其中,细菌培养操作复杂、耗时,对实验室条件要求高,标本转送和培养需保持低温并使用专门的转送液,文献报道该法特异性高且可进行药敏试验等研究,但仅适用于研究工作,难以在临床推广;¹³C-UBT 和¹⁴C-UBT 两者的原理、操作和效果基本相同^[6],而唾液测试板的价值还需进一步验证,故本研究选择了上述 5 种检测方法。

从结果看,侵入性检测方面,黏膜组织染色具有最高的敏感度,特异度也较高,作为病理检查,其本身是临床诊断的“金标准”。但具体到 Hp 检测,由于取材方式的限制,结果受到一定的影响,本研究于胃窦和胃体两处取标本,一定程度上提高了检出效率。但是黏膜组织染色取材需要借助胃镜,且制片过程复杂、技术要求高、价格较贵,影响了该检测方式的广泛应用,特别在进行大规模普查时无法作为首选方式。RUT 检测结果也受到取材部位、试剂 pH 值、细菌量、环境温度和观察时间等因素的影响,同时取 2 块组织检测可提高检测敏感度、特异度和准确度。该方法快速方便,建议对于接受胃镜检查的患者常规进行,特

别是基层单位。

UBT 检测的效果好、操作简单、无创,并能反映全胃 Hp 感染状况,是目前使用最广泛的检测方式。其中¹⁴C-UBT 的不足在于有一定的放射性,不适宜在儿童和孕妇中开展;而本研究所选用的¹³C-UBT 虽然各项观察指标均显示出比较明显的优势,且可在儿童、孕妇身上开展,但费用昂贵也限制了其在临床的推广^[7]。HpSA 检测同样具有较高的敏感度、特异度和准确度,常用于 Hp 治疗前诊断及治疗后复查,其操作安全简便,适用所有类型的患者^[8],在国外被认为可与 UBT 媲美,但国内目前尚无相应试剂,这可能是未来国内发展的一个方向^[9]。血清 Hp 抗体检测以 IgG 为检测对象,文献报道敏感度和特异度较高^[10]。本研究结果显示其各项指标均略低于其他方法,除了方法本身,可能与操作有一定关系。血清抗体可在体内维持较长时间,所以该方法并不能体现个体的实时感染情况,故不宜作治疗后复查,仅适用于流行病学调查。

从 5 种方法的总体效果看, *k* 值均 > 0.8, 说明每一种检测方法 with 诊断标准之间有很高的吻合度。通常 *k* 值 > 0.7 就被认为是吻合度强, > 0.8 被认为是极强的吻合度,¹³C-UBT 和黏膜组织染色的 *k* 值都 > 0.9。

可见,目前临床使用的检测方法均有较高的实用价值,但仍然没有一种具有绝对优势的“金标准”,在选择检测方法时,需结合不同个体的特点,充分考虑个体身体状况、依从性、经济承受能力等因素,选择一种或几种合适的检查方式。

参考文献

- [1] Helaly GF, El-Ghazzawi EF, Kazem AH, et al. Detection of Helicobacter pylori infection in Egyptian patients with chronic calculous cholecystitis[J]. Br J Biomed Sci, 2014, 71(1): 13-18.
- [2] 中华医学会消化病学分会幽门螺杆菌学组, 全国幽门螺杆菌研究协作组. 第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告[J]. 中华内科杂志, 2012, 51(10): 832-837.
- [3] 祝雯雯, 傅爽, 孙雯, 等. 幽门螺杆菌在人工模拟环境中生存状况的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(3): 641-643.
- [4] Kaymakci M, Aydin M, Yazici S, et al. Detection of Helicobacter pylori in adenoid tissue by real-time polymerase chain reaction[J]. Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg, 2014, 24(2): 78-82.
- [5] Irani S, Monsef EA, Bidari ZF. Detection of Helicobacter pylori in Oral Lesions[J]. J Dent Res Dent Clin Dent Prospects, 2013, 7(4): 230-237.
- [6] Pathak CM, Kaur B, Bhasin DK, et al. Comparison of encapsulated versus nonencapsulated (¹⁴C)-urea breath test for the detection of Helicobacter pylori infection: a scintigraphy study[J]. Helicobacter, 2014, 19(2): 116-123.
- [7] Masucci L, Blackhouse G, Goeree R. Cost-effectiveness of the carbon-13 urea breath test for the detection of Helicobacter pylori: an economic analysis[J]. Ont Health Technol Assess Ser, 2013, 13(20): 1-28.
- [8] 杨纯英, 谢肖肖, 李青松, 等. 粪便 Hp-DNA 检测在幽门螺杆菌现症感染中的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(15): 2194-2195.
- [9] 孙安民, 王伟. 酶联免疫法检测大便幽门螺杆菌抗原方法学评价[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(8): 1135-1136.
- [10] 杜娟, 王鲁, 王铮, 等. 幽门螺杆菌抗原和抗体试验的诊断效能评估[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(12): 1673-1675.

收稿日期: 2014-09-22

(上接第 1757 页)

- [4] Bowers RM, Clements N, Emerson JB, et al. Seasonal variability in bacterial and fungal diversity of the near-surface atmosphere[J]. Environ Sci Technol, 2013, 47(21): 12097-12106.
- [5] Schneider S, Rehner SA, Widmer F, et al. A PCR-based tool for cultivation-independent detection and quantification of Metarhizium clade I[J]. J Invertebr Pathol, 2011, 108(2): 106-114.
- [6] Awosika SA, Olajubu FA, Amusa NA. Microbiological assessment of indoor air of a teaching hospital in Nigeria[J]. Asian Pac J Trop Biomed, 2012, 2(6): 465-468.
- [7] Cao C, Jiang W, Wang B, et al. Inhalable microorganisms in Beijing's PM_{2.5} and PM₁₀ pollutants during a severe smog event[J]. Environ Sci Technol, 2014, 48(3): 1499-1507.
- [8] Horner WE, Worthan AG, Morey PR. Air- and dustborne mycoflora in houses free of water damage and fungal growth[J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70(11): 6394-6400.
- [9] Vonberg RP, Gastmeier P. Nosocomial aspergillosis in outbreak settings[J]. J Hosp Infect, 2006, 63(3): 246-254.
- [10] Adams RI, Miletto M, Lindow SE, et al. Airborne bacterial communities in residences: similarities and differences with fungi[J]. PLoS One, 2014, 9(3): e91283.
- [11] Afshari MA, Riazipour M, Kachuei R, et al. A qualitative and quantitative study monitoring airborne fungal flora in the kidney transplant unit[J]. Nephrourol Mon, 2013, 5(2): 736-740.
- [12] Sautour M, Sixt N, Dalle F, et al. Profiles and seasonal distribution of airborne fungi in indoor and outdoor environments at a French hospital[J]. Sci Total Environ, 2009, 407(12): 3766-3771.
- [13] 刘芸, 张炳昌, 尚旭明, 等. 医院感染病原菌分布及抗菌药物敏感性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(17): 3449-3452.

收稿日期: 2014-10-31