

# 胃幽门螺杆菌检测技术进展

闫伟, 曹建彪

闫伟, 山西医科大学第二临床医学院 山西省太原市 030001  
曹建彪, 中国人民解放军北京军区总医院消化内科 北京市 100700

作者贡献分布: 本文由闫伟综述, 曹建彪审校。

通讯作者: 曹建彪, 100700, 北京市, 中国人民解放军北京军区总医院消化内科. dodo\_yan@163.com

电话: 010-66721168

收稿日期: 2009-03-29 修回日期: 2009-05-08

接受日期: 2009-05-11 在线出版日期: 2009-05-28

## Progress in detection of gastric *Helicobacter pylori* infection

Wei Yan, Jian-Biao Cao

Wei Yan, the Second Clinical Medical College, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China  
Jian-Biao Cao, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing Command, Beijing 100700, China

Correspondence to: Jian-Biao Cao, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing Command, Beijing 100700, China. dodo\_yan@163.com

Received: 2009-03-29 Revised: 2009-05-08

Accepted: 2009-05-11 Published online: 2009-05-28

## Abstract

Precise tests or methods are the key points to improve diagnosis of *Helicobacter pylori* (*H pylori*) infection and to evaluate clinical therapeutic effect. According to the sampling location, these methods can be classified as: 1) those sampling from stomach, including morphological examination, bacterial culture, urease-dependent assays; and 2) other approaches, including serum test, gene analysis, *H pylori* stool antigen (*H pylori*-SA) detection, urine or saliva *H pylori* antibody detection, etc. This article reviews these methods systematically.

**Key Words:** *Helicobacter pylori*; Diagnostic method; Detection

Yan W, Cao JB. Progress in detection of gastric *Helicobacter pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(15): 1527-1533

## 摘要

精确的检测方法是诊断胃*H pylori*感染和评

价临床疗效的关键。按检测取材部位的不同可分为从胃内取材以及其他途径取材,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*抗原检测以及尿液、唾液*H pylori*抗体检测等。本文将这些方法分类介绍。

**关键词:** 幽门螺杆菌; 诊断方法; 检测

闫伟, 曹建彪. 胃幽门螺杆菌检测技术进展. 世界华人消化杂志 2009; 17(15): 1527-1533

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1527.asp>

## 0 引言

1983年澳大利亚学者Warren和Marshall报道从人胃内成功分离出“未鉴定的弯曲状杆菌”(*Campylobacter pylori*)<sup>[1]</sup>引起医学界的广泛兴趣,并从各方面展开了深入的研究。人们在研究这种细菌的生物学特性时,曾几次易其名,直至1989年Goodwin *et al*<sup>[2]</sup>建立了螺杆菌属,才将*Campylobacter pylori*正式命名为*Helicobacter pylori*,简称*H pylori*。国内译为“幽门螺杆菌”。

针对*H pylori*的形态已有详细描述<sup>[3]</sup>。简言之,光镜下,他是一种革兰氏阴性、S形或弧形弯曲的细菌。电镜下,他是一种单极多鞭毛、末端钝圆、菌体呈螺旋形弯曲的细菌,有鞭毛、适应性的酶和蛋白,这使他能在胃腔中高酸性环境中定植和生存,*H pylori*产生的毒素和有毒作用的酶能破坏胃黏膜屏障,他还能使机体产生炎症和免疫反应,影响胃酸的分泌,最终会导致一系列疾病的形成。关于*H pylori*的致病性早在Marshall最初分离出*H pylori*时就曾预言<sup>[1]</sup>,如果Warren发现的细菌真的与胃窦炎密切相关,这种细菌可能会在消化性溃疡和胃癌发病中起一定作用。1985年Marshall报道了他本人吞服*H pylori*的实验,结果亦证实了*H pylori*为致病菌<sup>[4]</sup>。1994年国际癌症研究中心(international agency for research on cancer, IARC)将*H pylori*列为I类致癌物<sup>[5]</sup>。目前对*H pylori*的研究已进

## ■背景资料

流行病学调查显示,*H pylori*感染在世界各地均较为常见,具有很高的发病率。我国*H pylori*感染率40%-90%,平均59%,面对如此严峻的形势,要控制*H pylori*感染的流行趋势,必须要采取精确、客观的诊断方法,本文以简明扼要的语言对目前诊断*H pylori*感染的方法进行分类研究。

## ■同行评议者

白爱平,副教授,南昌大学第一附属医院消化内科

## ■相关报道

国外一项关于 *H pylori* 感染率调查的分析显示 *H pylori* 感染率为 67%, 并且随着年龄的增大而增加, 女性发病率高于男性。我国及其他发展中国家属于 *H pylori* 感染的高发区。2001-2004 年由中华医学会全国 *H pylori* 分会进行的一项涉及全国 20 个省市的自然人群 *H pylori* 流行病学调查显示, 我国 *H pylori* 感染率 40%-90%, 平均 59%。

入分子生物学水平, 从 *H pylori* 的基因角度研究 *H pylori* 的定植, 毒力因子, 造成宿主的炎症与免疫反应, 影响宿主的胃酸分泌, 与宿主的胃炎、消化性溃疡、胃食管反流病、胃 MALT 淋巴瘤(gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue)以及胃肠道以外有关疾病的发生有一定的关系<sup>[6-7]</sup>。此外 *H pylori* 和非甾体类抗炎药(nonsteroidal antiinflammatory drugs, NSAIDs)在胃黏膜损伤中的关系、致胃癌的发病机制以及与功能性消化不良的关系等, 众多研究结果不一致, 尚有待进一步探索。

流行病学调查显示, *H pylori* 感染在世界各地均较为常见, 具有很高的发病率。国外一项关于 *H pylori* 感染率调查的分析显示 *H pylori* 感染率为 67%, 并且随着年龄的增大而增加, 女性发病率高于男性<sup>[8]</sup>。我国及其他发展中国家属于 *H pylori* 感染的高发区。2001-2004 年由中华医学会全国 *H pylori* 分会进行的一项涉及全国 20 个省市的自然人群 *H pylori* 流行病学调查显示, 我国 *H pylori* 感染率 40%-90%, 平均 59%<sup>[9]</sup>。人是目前肯定的 *H pylori* 传染源, 虽然 *H pylori* 可以排出体外, 但传染的载体尚不清楚。

*H pylori* 的诊断技术, 按照检测创伤性的不同可分为侵入和非侵入检查 2 类。从胃部取材进行 *H pylori* 检测最直接、可靠, 包括微生物学方法、形态学检查、尿素酶依赖性试验, 此外亦尝试通过其他途径取样本进行 *H pylori* 感染的鉴定, 如: 血清免疫学、基因分子生物学检测、粪便 *H pylori* 抗原检测以及尿液、唾液 *H pylori* 抗体检测等。

## 1 微生物学方法

诊断 *H pylori* 感染, 最准确的方法是病原学检查, *H pylori* 培养成菌落后, 可用现有的各种鉴定方法进行鉴定, 其特异性可达 100%, 故常作为 *H pylori* 检测的“金标准”<sup>[10]</sup>。目前用于 *H pylori* 分离的培养基可分为 2 大类: 非选择性培养基及选择性培养基。前者常以脑心浸液琼脂、胰蛋白胍大豆琼脂及哥伦比亚琼脂为基础, 添加 5%-8% 马血清、胎牛血清或兔血清等。后者常用 Skirrow 培养基和 Dent 培养基。他们是在非选择性培养基中加入了抗菌物质, 故而优于前者, 不仅分离菌落较大, 且不易生长杂菌, 有利于提高标本中 *H pylori* 的检出率。随着对 *H pylori* 研究的深入, 各国学者发现在培养基中加入淀粉、氯化血红素、活性炭、环状糊精等添加剂对 *H pylori* 有明显的刺激生长

作用。认为这些物质可吸附培养基里的毒性物质, 促进该菌的生长。由于 *H pylori* 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。但 *H pylori* 的培养分离可为临床提供有意义的资料, 如对常规 *H pylori* 根除失败需行药敏试验者选择有效抗生素<sup>[11]</sup>。值得注意的是在该项检查中有可能出现假阴性的情况, 如标本在室温中放置 3 h 以上, 培养基不新鲜或太干, 或培养基中湿度不够, 以及当 *H pylori* 变成圆球形、死亡、菌量过少或培养环境达不到 *H pylori* 生长的要求, 则常规方法难以检出。

## 2 形态学检查

2.1 胃黏膜涂片镜检 属简单的形态学检测方法, 将活检胃黏膜标本的黏膜面在干净玻片上涂抹成 0.5-1 cm 直径大小的涂片, 自然干燥, Gram 染色油镜下观察涂片的细菌形态和数量, 观察有无典型的弯曲形或螺旋形细菌, 可迅速确定有无 *H pylori* 感染和胃内的菌群及炎症细胞渗出情况。Piccolomini *et al*<sup>[12]</sup>报道了用 Leifson 鞭毛染色法诊断 *H pylori* 感染, 用 Leifson 鞣酸-品红染色法来做胃活检标本印片细胞学检查, 以显 *H pylori* 的鞭毛, 并与组织学检查、快速尿素酶试验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查方法无显著差异( $P>0.05$ ), 并且印片细胞学标本还可进一步作组织学检查或 *H pylori* 培养。因此, Leifson 染色法具有快速、敏感、可作回顾性分析等优点, 是一种非常有益的侵入性试验方法。由于涂片是将 *H pylori* 主要定植部位的黏液进行观察, 阳性率很高, 且对治疗后残留少量的 *H pylori* (非形态变异者)即使 UAT(-)也可作出诊断, 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 RUT 的单位进行。

2.2 组织病理切片染色 该法是把患者胃镜检查活检组织切片, 染色后可观察到组织中的 *H pylori* 菌体。因 *H pylori* 对胃窦黏膜有相对的定植特异性(定植密度较高), 因此多从胃窦取材, 但该菌在胃内其他部位的分布频度差异不显著(肠上皮化生区除外), 因此对于胃镜下取材的部位和数目, 除胃窦外欧美多主张加取胃体标本<sup>[13]</sup>。悉尼系统规定这 2 个部位各取 2 块组织, 日本医科大学等单位则主张胃窦、角、体 3 点取材。国内王继德 *et al*<sup>[14]</sup>的研究则主张, 在初诊患者胃窦单点

取材已经足以诊断96.2%的阳性者, 如单纯诊断 *H pylori* 感染, 为避免对患者造成更大的创伤, 不应推荐多部位多数量取材. 此外, 应用抑酸剂特别是泵抑制剂治疗后, 可能由于胃内生态环境发生了改变, 未根除的 *H pylori* 可从胃窦向胃体部迁移(migration), 此时进行治疗效果的评价时, 需同时从胃体部取材检查, 而在初诊患者如果需要了解组织学病变的范围(如萎缩性胃炎), 多点取材也是需要的<sup>[13]</sup>.

近年来应用于 *H pylori* 检测染色法的如下: 最早由 Warshal 发明的 Warthin-Starry 银染色, 以及革兰氏染色法、Giemsa 染色法、苏木精-伊红染色法、丫啶橙染色法等. 目前以 Warrhin-Starry 银染色效果最佳, 细菌清晰易辨, 但费时且需一定技术; 改良 Giemsa 和甲苯胺兰染色较简便, 效果也较好, 临床中常用; 其他方法还有碳酸复红染色、Gimenz 染色等; HE 染色尽管不具特异性, 当菌量较多时, 也可凭借 *H pylori* 的形态及其在胃黏膜的分布特征对所有病例做出诊断, 即可供组织学诊断之用. 组织学诊断 *H pylori* 的优点是可以同时进行胃黏膜的病理学诊断且特异性和敏感性均较高, 分别为89%-100%和90%-99%<sup>[15]</sup>.

### 3 尿素酶依赖性试验

3.1 RUT *H pylori* 能够产生大量的尿素酶, 分解胃液中的微量尿素引起酸碱度的变化, 产生  $\text{CO}_2$ , 使局部的pH值升高, 中和胃酸, 便于细菌定植致病, 根据这一发现, Marshall *et al* 设计了RUT, 用于胃镜检查中诊断 *H pylori* 感染, 他属于侵入性检测方法之一. 在检查时, 可分别在不同部位取材(包括幽门前胃窦大弯、胃角、中部胃体大弯等)进行快速试验, 其结果特异性可达100%, 阳性组在胃角可达100%, 幽门前胃窦、胃大弯可达87%, 胃体可达84.4%, 胃角和幽门前胃窦部尿素酶阳性反应出现时间较胃体时间短<sup>[16]</sup>. 但也有研究表明, 标本中必须含有  $10^4$  以上的 *H pylori* 才能显示阳性, 而标本的大小、反应时间的长短、环境温度的高低等因素均可影响试验结果. Arvind *et al*<sup>[17]</sup> 于1988年报道了1 min 尿素酶试验: 即用无离子水配制100%的尿素溶液, 分装在小管内, 每管为1 mL加入1%的酚红2滴, pH6.8, 1 min看结果, 未见假阴性, 敏感性为91%. 由于反应时间短, 避免了产生尿素酶的污染菌繁殖所致的假阳性, 但Montes *et al*<sup>[18]</sup> 的研究则认为采用RUT检测 *H pylori* 时不能过分追求缩短检测时

间, 否则会引起假阳性结果的大量增加. 该法检测 *H pylori* 中应该注意的是, 在胃内有活动性出血时, 因出血造成胃内pH值的变化, 可影响尿素酶试验的敏感性和特异性<sup>[19]</sup>. 目前RUT已有许多方面的改进, 如应用pH敏感化学感受检测器后敏感性和特异性分别达92%和95%<sup>[20]</sup>.

3.2 尿素呼气试验 1986年由美国Garham和Klein博士首先报道, 原理是 *H pylori* 在体内产生尿素酶, 因此若给感染 *H pylori* 的患者口服同位素标记的尿素溶液, 则尿素分解后产生的同位素  $\text{CO}_2$  从肺呼出, 可收集呼气标本, 用液体闪烁计数器或用气体同位素质谱仪检测同位素  $\text{CO}_2$  的量. 根据标志物不同分为  $^{13}\text{C}$  呼吸试验及  $^{14}\text{C}$  呼吸试验. 此项检测目前被认为是除培养之外诊断 *H pylori* 感染的“金标准”, 临床应用广泛, 不需做内镜取标本, 技术要求低, 缺点是费用高,  $^{13}\text{C}$ -UBT 优点在于: (1)采用的高精度气体同位素比值质谱仪分析精度可达十万分之一, 准确性高; (2)反应是“全胃”的“实时”状态, 敏感性和特异性均超过95%, 在中国和欧洲的 *H pylori* 共识意见中, 该方法被首选推荐为确诊 *H pylori* 现症感染及判断 *H pylori* 根除的非侵入性方法; (3)操作简便快速, 自动化程度高, 30 min即可得出结果; (4) $^{13}\text{C}$  为稳定性同位素, 适合于各年龄的受试者; (5)呼气样品采用特制气体收集瓶收集, 可通过邮寄该瓶对无此设备的其他地区患者进行 *H pylori* 检测. 因此 $^{13}\text{C}$ -UBT 在1996年通过美国食品药品监督管理局(FDA)评审后, 便很快广泛应用于临床对 *H pylori* 感染的诊断. 缺点在于该检查受到诸如药物、上消化道出血、胃内其他杂菌(如人海尔曼螺杆菌等)的影响而可能出现假阳性和假阴性的结果, 且检查需要大型质谱仪和试剂较昂贵, 因此很大程度限制了在基层医院的开展;  $^{14}\text{C}$  尿素呼气试验价格低廉, 但试验具有放射性, 且半衰期很长, 尽管放射性较低, 做一次呼气试验接受的放射剂量只相当于一次胸部X线拍片的1/60, 但大规模应用可对环境造成污染, 此外该方法对孕妇、儿童及活动性胃出血者慎用. 我国陈洁平 *et al*<sup>[21]</sup> 首创用胶囊微量法(microdose capsule based  $^{14}\text{C}$ -UBT)通过与金标准(细菌培养和/或病理组织学检查结果)对比结果可靠, 其敏感性可达97.06%, 特异性为95.12%, 阳性预测值为97.06%, 阴性预测值为97.12%.

3.3  $^{15}\text{N}$ -尿素排出试验 该方法是由我国吴继琮 *et al*<sup>[22]</sup> 首创并应用于临床的. 其原理基本与标记

### ■创新盘点

本文创新之处在于 *H pylori* 的检测方法按取材部位的不同进行分类, 可分为从胃内取材包括: 微生物学方法、形态学检查、尿素酶依赖性试验, 以及其他途径取样本进行 *H pylori* 感染的检测, 如: 血清免疫学、基因分子生物学检测、粪便 *H pylori* 抗原检测以及尿液、唾液 *H pylori* 抗体检测等.

## ■应用要点

本文作者认为 *H pylori*-SA 因其独特的优点是目下较为理想的非侵入性 *H pylori* 现症感染诊断方法, 该法操作简便, 省时, 具有很高的准确性, 而其费用却明显低于  $^{13}\text{C}$ -呼气试验, 此外尿素呼气试验在有胃部分切除史的患者中准确性有限, 而 *H pylori*-SA 试验则不受影响; 尿素呼气试验需被检者配合, 年幼儿童可能会有困难, 而 *H pylori*-SA 试验仅需收集粪便标本, 故在 *H pylori* 感染的流行病学调查、儿童检测消化不良, 或内镜检查前筛查, 治疗后复诊等诸多方面具有较好的应用价值。

碳的  $\text{CO}_2$  呼气试验相同, 即测试者口服  $^{15}\text{N}$ -尿素, 在胃中经尿素酶作用分解成标记的  $^{15}\text{NH}_3$  和  $\text{CO}_2$ , 经消化系吸收进入血液循环, 而  $^{15}\text{NH}_3$  标记的氮经机体氮代谢变为氨或尿素后由肾脏排除, 利用色谱联用仪检测。该方法也是一种无创性检查, 无放射性污染, 具有较高的敏感性与特异性, 但仪器昂贵, 尚未得到普及推广。

## 4 其他途径检测 *H pylori* 感染

### 4.1 血清免疫学

4.1.1 *H pylori* 抗原/抗体的检测: *H pylori* 菌体表面存在多种抗原组分如尿素酶、脂多糖、黏附素等, 这些抗原均可刺激宿主产生免疫反应, 产生 IgG、IgA、IgM 抗体, 血清学主要检测的是可长期存在于血清中的 IgG。ELISA 法是目前最常用的定性或定量检测血清中 *H pylori* 抗体 IgG 的方法。其他方法包括: (1) 免疫层析法-库力斯伯法 (Flexpack TM *H pylori*), 该法是根据反向免疫层析法原理, 快速、定性测定血清 *H pylori*-IgG 抗体, 无需专门设备或仪器, 与组织学检查对照, 其敏感性为 94.68%, 特异性为 89.04%, 符合度为 92.22%<sup>[23]</sup>。(2) 血清学可溶性 *H pylori* 抗原检测, 当 *H pylori* 感染人体后, *H pylori* 可释放可溶性抗原 (S-*H pylori*), 并出现于循环外周血中。因此, 检测 S-*H pylori* 可用于 *H pylori* 的诊断。该方法先采用超速离心和凝胶过滤等技术纯化 *H pylori* 外膜蛋白, 获得抗膜蛋白抗体, 然后对受试者血清行双抗体夹心法测定血清中 S-*H pylori*, 其突出的优点是血清不用稀释, 操作简便, 成本低廉。(3) 斑点金免疫渗透试验 (DIGFA) 与 Western 印迹法也较常见, Western 印迹法可作为血清学方法的补充试验, 对 ELISA 结果有疑问的儿童病例更为适用。此外 *H pylori* 阴性者血中也可存在交叉反应性抗体 (如空肠弯曲菌感染), 且 *H pylori* 根除后血中抗体在一段时间内仍维持在阳性水平, 故血抗 *H pylori*-IgG 测定的结果不能准确反映出受检者当时 *H pylori* 感染的情况。因此血清学抗体的检测主要用于易感人群的筛查以及流行病学调查。

4.1.2 N-乙酰神经氨酸结合凝集素 (NLBH) 抗体的检测: Evans *et al*<sup>[24]</sup> 从 *H pylori* 中提纯 NLBH, 经证实无脲酶活性。以此为抗原, 行 ELISA 检测 NLBH 抗体, 结果得特异性 88.3%, 敏感性 75%, 消化性溃疡患者 81.5% 可检出 NLBH 抗体。故 NLBH 抗体的检测有可能作为溃疡活动性的指标。

### 4.2 基因分子生物学

4.2.1 单一-PCR: Hoshina *et al*<sup>[25]</sup> 首先将聚合酶链反应 (PCR) 技术用于 *H pylori* 的诊断。PCR 技术明显提高了 *H pylori* 诊断的敏感性 (可检出相当于 100 个细菌细胞) 和特异性, 且对原材料的要求低, 除新鲜活检标本外, 可检测唾液、胃液, 石蜡包埋和已做过快速尿素酶试验的标本也可应用, 并可对粪便和环境中的 *H pylori* DNA 进行检测。部分 *H pylori* 基因的核酸序列已经明确, 以此为基础设计 PCR 引物可进行 *H pylori* 的基因检测, 常用的引物来自尿素酶基因 (*ureA*)、16srRNA 基因、23srRNA 基因、磷酸葡萄糖氨基转移酶 (*ureC*) 基因、细胞毒素相关基因 (*CagA*) 等, 其中前两种应用最为广泛, 目前 PCR 仪、引物皆已商品化, 能进行大规模推广, 应用于检验及流行病学调查。但这也存在着一个问题, 即已被抗生素杀死而仍存留胃中的 *H pylori* DNA, 也会被扩增出现阳性结果。故 PCR 不宜用来判断治疗的短期效果。

4.2.2 套式-PCR (Nested-PCR): 采用 Nested-PCR 进行 2 次扩增, 既提高了检测的灵敏度, 又可避免粪便标本 *H pylori* 检测的假阴性<sup>[26]</sup>。Gramley *et al*<sup>[27]</sup> 选取 *H pylori* 16SrRNA 基因的 2 对引物对粪便标本进行两次扩增, 检测到少于 10 fg (相当于 7 个细菌)/mL 的 *H pylori* DNA, 敏感性和特异性分别达 73% 和 100%。

4.2.3 逆转录-PCR (RT-PCR): 以 *H pylori* 的 RNA 为模板, 在逆转录酶的作用下, 合成 DNA 进行 PCR 扩增。其作用主要是用于科研检测 RNA 水平的活性。

4.2.4 寡核苷酸探针杂交: 根据 *H pylori* 基因特异序列, 合成 10-20 bp 寡核苷酸, 对一端行同位素、生物素或地高辛标记。在常规制备的石蜡切片上通过免疫 DNA 杂交、同位素标记的放射自显影或生物素及地高辛标记的显色系统, 确定有无与探针互补的特异序列的存在, 以进行 *H pylori* 的流行病学调查和鉴定。但该法烦琐费时临床应用较少<sup>[28]</sup>。

4.3 粪便 *H pylori* 抗原检测 (*H pylori*-SA) *H pylori* 粪便抗原检测试验 (*H pylori*-SA), 是一种非侵入性诊断方法。由于 *H pylori* 定居于胃上皮细胞表面, 而胃上皮细胞更新很快, 在其更新的过程中, 定植于上皮细胞表面的 *H pylori* 随细胞脱落, 经过肠道随粪便排出体外, 故理论上可以用抗 *H pylori* 抗体的酶联免疫方法检测到 *H pylori*-SA。美国胃肠病周会议摘要首先报道了 *H pylori*-SA 检测方

法, 敏感性和特异性均在90%以上<sup>[29]</sup>, 此外另有研究报道, *H pylori*粪便抗原检测试验的敏感度为90.0%-98.2%, 特异度为75.0%-100%<sup>[30-31]</sup>.

*H pylori*粪便抗原检测试验采用酶联免疫分析双抗体夹心法, 能够特异性诊断人体内*H pylori*感染. 首先用*H pylori*抗原免疫家兔, 获得兔抗*H pylori*抗血清, 再由纯化的抗血清取得抗*H pylori*多克隆抗体, 利用氧化法将辣根或山葵过氧化物酶标记于兔抗*H pylori*多克隆抗体上, 最后把抗体进行包被封闭, 即可用于检测. 粪便标本可在2℃-8℃贮存3 d或无限期贮存于-20℃. 通过贮存可1次检测在数天或数周内收集的多个标本, 从而使费用降低, 并可供今后进一步分析.

*H pylori*-SA是较理想的非侵入性*H pylori*诊断方法, 操作简便, 省时, 不需昂贵仪器, 在*H pylori*感染的流行病学调查、儿童检测消化不良, 或内镜检查前筛查, 治疗后复诊等诸多方面具有较好的应用价值, 尤其适用于婴幼儿*H pylori*感染的检测, 并可作为远期根治疗效的评价指标<sup>[32]</sup>. 但值得注意的是由于本方法检测的是粪便中*H pylori*抗原, 当患者进行*H pylori*根除治疗后, 即便患者的*H pylori*已经被根除, 但在治疗结束4 wk时约有6%的患者粪便中仍然有可能被检测出*H pylori*抗原, 从而导致假阳性的结果, 如果在采用本法进行疗效判断时, 让患者在治疗结束后6-8 wk进行检测, 则可以明显降低试验的假阳性率<sup>[33]</sup>. 此外, 这一试验还可能具有一些独特的优点, 如*H pylori*-SA检测法具有很高的准确性, 而其费用却明显低于<sup>13</sup>C-呼气试验, 此外尿素呼气试验在有胃部分切除史的患者中准确性有限, 而*H pylori*-SA试验则不受影响; 尿素呼气试验需被检者配合, 年幼儿童可能会有困难, 而*H pylori*-SA试验仅需收集粪便标本.

**4.4 尿液抗*H pylori*抗体检测** 1993年Alemohammad *et al*<sup>[34]</sup>首次报道306例尿液抗*H pylori*抗体检测的敏感性和特异性分别为95.9%和90%, 证实他的有用性. Leodlter *et al*<sup>[35]</sup>为评价尿抗体ELISA法和相近患者尿试验诊断感染的作用, 在4个欧洲国家5个中心收集了449例(女240例、男209例, 平均年龄54岁未做过抗*H pylori*感染治疗的消化不良患者的尿液标本, 用IgG ELISA(Pyloriset-EIA-GI II)、全血试验(Py-loriset-Screen)和<sup>13</sup>C]尿素呼气试验进行比较, 结果URINELISA和RAPIRUN的敏感性分别为90%、82%, 特异性分别为68%、83%, 其准确性与血清学试验一

致. URINELISA法诊断儿童*H pylori*感染具有快速、费用低、可靠性强、容易操作的特点, 而且对儿童群体大规模流行病学筛查有价值<sup>[36]</sup>.

**4.5 唾液抗*H pylori*抗体检测** 长期以来多数学者认为胃部是*H pylori*的主要储存地, 胃黏膜、上皮、胃液、胃的反流物及胃炎患者甚至婴幼儿的呕吐物、粪便中均检测出了*H pylori*的存在. 1983年Krajden *et al*<sup>[37]</sup>首次从胃炎患者的牙菌斑中分离培养出*H pylori*, 并推测口腔可能是*H pylori*在人体的另一个聚集地. 从此, 口腔内*H pylori*的研究也逐渐成为热点问题. 1993年, Ferguson *et al*<sup>[38]</sup>首次从9例胃炎患者的唾液中培养出1例具有生存能力的*H pylori*, 次年Patel *et al*亦报道了唾液中的抗*H pylori* IgG与血清抗*H pylori* IgG一致性达91%, 有良好正相关性, 可正确判断患者感染*H pylori*情况<sup>[39]</sup>. 此外, 值得一提的是, 关于口腔*H pylori*的来源, 有人认为是通过胃食管反流使*H pylori*逆行到达口腔, 也有人认为*H pylori*是先到达口腔定居, 在适当的时候进入胃黏膜<sup>[40]</sup>, 对此尚有待进一步的探讨.

## 5 结论

*H pylori*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、粪便*H pylori*抗原、尿液以及唾液*H pylori*抗体检测可作为筛查以及流行病学调查手段, 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, 粪便*H pylori*抗原检测和<sup>13</sup>C呼气试验用于确定经治疗后*H pylori*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, *H pylori*的检测方法必将不断取得突破性进展.

## 6 参考文献

- 1 Warren JR, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1: 1273-1275
- 2 Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, Peters M, Collins MD, Sly L, McConnell W, Harper WES. Transer of campylobacter pylori and campylobacter mustelae to Helicobacter gen.nov. as Helicobacter pylori comb. nov. and Helicobacter mustelae comb. nov. respectively. *Int J Syst Bacteriol* 1989; 39: 397-405
- 3 Goodwin CS, Worsley BW. Microbiology of Helicobacter pylori. *Gastroenterol Clin North Am* 1993; 22: 5-19
- 4 Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfil Koch's postulates for pyloric Campylobacter. *Med J Aust* 1985; 142: 436-439
- 5 IARC monographs on the evaluation of

## ■名词解释

胶囊微量法: 将<sup>14</sup>C-尿素从一般用量10 μCi、5 μCi减少至1 μCi, 不仅减少了患者同位素负荷, 且价廉、简便, 消除了口腔尿素酶干扰, 还减少了环境污染的可能性.

# ■同行评价

本文内容全面,参考文献引用合理,具有很好的可读性。

- 6 Grande M, Cadeddu F, Villa M, Attinà GM, Muzi MG, Nigro C, Rulli F, Farinon AM. Helicobacter pylori and gastroesophageal reflux disease. *World J Surg Oncol* 2008; 6: 74
- 7 Chlumská A, Boudová L, Benes Z, Zámecník M. Histopathologic changes in gastroesophageal reflux disease. A study of 126 bioptic and autoptic cases. *Cesk Patol* 2007; 43: 142-147
- 8 Marie MA. Seroprevalence of Helicobacter pylori Infection in Large Series of Patients in an Urban Area of Saudi Arabia. *Korean J Gastroenterol* 2008; 52: 226-229
- 9 高文, 胡伏莲. 中华医学会第4次全国幽门螺杆菌学术会议报道. 中华医学信息导报 2005; 20: 9
- 10 Jaup BH, Stenquist B, Brandberg A. Helicobacter pylori culture from a positive, liquid-based urease test for routine clinical use: a cost-effective approach. *Helicobacter* 2000; 5: 22-23
- 11 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. 胃肠病学 2008; 13: 42-46
- 12 Piccolomini R, Di Bonaventura G, Neri M, Di Girolamo A, Catamo G, Pizzigallo E. Usefulness of Leifson staining method in diagnosis of Helicobacter pylori infection. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 199-201
- 13 Morris A, Ali MR, Brown P, Lane M, Patton K. Campylobacter pylori infection in biopsy specimens of gastric antrum: laboratory diagnosis and estimation of sampling error. *J Clin Pathol* 1989; 42: 727-732
- 14 王继德, 陈烨, 徐克强, 张亚历, 孙勇, 朱建新, 周殿元. 幽门螺杆菌感染几种诊断方法的准确性评价. 中华消化内镜杂志 2000; 17: 248-249
- 15 Madan E, Kemp J, Westblom TU, Subik M, Sexton S, Cook J. Evaluation of staining methods for identifying Campylobacter pylori. *Am J Clin Pathol* 1988; 90: 450-453
- 16 Savarino V, Mela GS, Zentilin P, Lapertosa G, Ceppa P, Vigneri S, Mele MR, Mansi C, Tracci D, Bisso G, Celle G. 24-hour gastric pH and extent of duodenal gastric metaplasia in Helicobacter pylori-positive patients. *Gastroenterology* 1997; 113: 741-745
- 17 Arvind AS, Cook RS, Tabaqchali S, Farthing MJ. One-minute endoscopy room test for Campylobacter pylori. *Lancet* 1988; 1: 704
- 18 Montes H, Salmen S, Dolfo W, Sotolongo A, Petrosino P, Donis J, Berrueta L. Evaluation of a liquid urease test (LUT) for detection of Helicobacter pylori. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2003; 33: 73-76
- 19 Lee JM, Breslin NP, Fallon C, O'Morain CA. Rapid urease tests lack sensitivity in Helicobacter pylori diagnosis when peptic ulcer disease presents with bleeding. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1166-1170
- 20 Sato T, Fujino MA, Kojima Y, Ohtsuka H, Ohtaka M, Kubo K, Nakamura T, Morozumi A, Nakamura M, Hosaka H. Endoscopic urease sensor system for detecting Helicobacter pylori on gastric mucosa. *Gastrointest Endosc* 1999; 49: 32-38
- 21 陈洁平, 徐采朴, 程绍钧, 徐启旺, 柳凤轩, 王振华, 房殿春, 高晋华. 胶囊微量法<sup>14</sup>C-尿素呼气试验诊断幽门螺杆菌感染. 第三军医大学学报 1997; 19: 317-320
- 22 Wu JC, Liu GL, Zhang ZH, Mou YL, Chen QA, Wu JC, Yang SL. 15NH<sub>4</sub><sup>+</sup> excretion test: a new method for detection of Helicobacter pylori infection. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 181-184
- 23 邓会芬, 何绍滔, 叶玉清. 快速免疫层析法—库力斯伯法测定血清幽门螺杆菌抗体(附167例检测结果). 新医学 1998; 29: 518-519
- 24 Evans DG, Karjalainen TK, Evans DJ Jr, Graham DY, Lee CH. Cloning, nucleotide sequence, and expression of a gene encoding an adhesin subunit protein of Helicobacter pylori. *J Bacteriol* 1993; 175: 674-683
- 25 Hoshina S, Kahn SM, Jiang W, Green PH, Neu HC, Chin N, Morotomi M, LoGerfo P, Weinstein IB. Direct detection and amplification of Helicobacter pylori ribosomal 16S gene segments from gastric endoscopic biopsies. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1990; 13: 473-479
- 26 Bamford KB, Lutton DA, O'Loughlin B, Coulter WA, Collins JS. Nested primers improve sensitivity in the detection of Helicobacter pylori by the polymerase chain reaction. *J Infect* 1998; 36: 105-110
- 27 Gramley WA, Asghar A, Frierson HF Jr, Powell SM. Detection of Helicobacter pylori DNA in fecal samples from infected individuals. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2236-2240
- 28 张万岱, 徐智民. 幽门螺杆菌感染诊断方法的评价与诊断标准. 中华全科医师杂志 2004; 3: 351-353
- 29 Trevisani L, Sartori S, Galvani F, Rossi MR, Ruina M, Chiamenti C, Caselli M. Evaluation of a new enzyme immunoassay for detecting Helicobacter pylori in feces: a prospective pilot study. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1830-1833
- 30 Tanaka A, Watanabe K, Tokunaga K, Hoshiya S, Imase K, Sugano H, Shingaki M, Kai A, Itoh T, Ishida H, Takahashi S. Evaluation of Helicobacter pylori stool antigen test before and after eradication therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 732-738
- 31 Tanaka A, Takahashi S. [Helicobacter pylori stool antigen test] *Nippon Rinsho* 2004; 62: 464-469
- 32 Metz DC. Stool testing for Helicobacter pylori infection: yet another noninvasive alternative. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 546-548
- 33 Vaira D, Vakil N, Menegatti M, van't Hoff B, Ricci C, Gatta L, Gasbarrini G, Quina M, Pajares Garcia JM, van Der Ende A, van Der Hulst R, Anti M, Duarte C, Gisbert JP, Miglioli M, Tytgat G. The stool antigen test for detection of Helicobacter pylori after eradication therapy. *Ann Intern Med* 2002; 136: 280-287
- 34 Alemohammad MM, Foley TJ, Cohen H. Detection of immunoglobulin G antibodies to Helicobacter pylori in urine by an enzyme immunoassay method. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2174-2177
- 35 Leodolter A, Vaira D, Bazzoli F, Schütze K, Hirschl A, Mégraud F, Malfertheiner P. European multicentre validation trial of two new non-invasive tests for the detection of Helicobacter pylori antibodies: urine-based ELISA and rapid urine test. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 927-931
- 36 Okuda M, Nakazawa T, Booka M, Miyashiro E, Yosikawa N. Evaluation of a urine antibody test for Helicobacter pylori in Japanese children. *J Pediatr* 2004; 144: 196-199
- 37 Krajden S, Fuksa M, Anderson J, Kempston J, Boccia A, Petrea C, Babida C, Karmali M, Penner JL. Examination of human stomach biopsies, saliva, and dental plaque for Campylobacter pylori. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1397-1398
- 38 Ferguson DA Jr, Li C, Patel NR, Mayberry WR, Chi



- DS, Thomas E. Isolation of *Helicobacter pylori* from saliva. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2802-2804
- 39 Patel P, Mendall MA, Khulusi S, Molineaux N, Levy J, Maxwell JD, Northfield TC. Salivary antibodies to *Helicobacter pylori*: screening dyspeptic patients before endoscopy. *Lancet* 1994; 344: 511-512
- 40 Oshowo A, Gillam D, Botha A, Tunio M, Holton J, Boulous P, Hobsley M. *Helicobacter pylori*: the mouth, stomach, and gut axis. *Ann Periodontol* 1998; 3: 276-280

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

## 2007 年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序

代码	期刊名称	总被引频次			影响因子		
		数值	学科排名	离均差率	数值	学科排名	离均差率
1170	JOURNAL OF GERIATRIC CARDIOLOGY	19	44	-0.98	0.059	44	-0.89
G275	WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY	4431	1	3.46	0.745	10	0.38
G803	肝脏	467	28	-0.53	0.537	17	-0.01
G938	国际呼吸杂志	521	25	-0.48	0.386	32	-0.29
G415	国际内分泌代谢杂志	654	20	-0.34	0.520	19	-0.04
G939	国际脑血管病杂志	662	19	-0.33	0.480	22	-0.11
G501	临床肝胆病杂志	497	26	-0.50	0.318	36	-0.41
G291	临床骨科杂志	689	18	-0.31	0.455	25	-0.16
G658	临床荟萃	1169	13	0.18	0.233	40	-0.57
G257	临床内科杂志	651	21	-0.35	0.367	34	-0.32
G855	临床消化病杂志	292	36	-0.71	0.394	30	-0.27
G261	临床心血管病杂志	866	17	-0.13	0.474	24	-0.12
G293	临床血液学杂志	341	34	-0.66	0.347	35	-0.36
G491	岭南心血管病杂志	157	41	-0.84	0.110	43	-0.79
G662	内科急危重症杂志	276	37	-0.72	0.318	36	-0.41
G746	实用肝脏病杂志	297	35	-0.70	1.100	3	1.04
G190	世界华人消化杂志	2353	5	1.37	0.568	15	0.05
G800	胃肠病学	376	33	-0.62	0.372	33	-0.31
G326	胃肠病学和肝病杂志	468	27	-0.53	0.399	29	-0.26
G451	现代消化及介入诊疗	84	43	-0.92	0.230	41	-0.58
G083	心肺血管病杂志	214	40	-0.78	0.206	42	-0.62
G419	心血管病学进展	467	28	-0.53	0.419	27	-0.23
G260	心脏杂志	523	24	-0.47	0.392	31	-0.28
G610	胰腺病学	223	38	-0.78	0.282	38	-0.48
G234	中国动脉硬化杂志	869	16	-0.13	0.521	18	-0.04
G422	中国脑血管病杂志	223	38	-0.78	0.503	21	-0.07
G267	中国实用内科杂志	2121	7	1.13	0.601	13	0.11
G211	中国糖尿病杂志	1284	11	0.29	0.931	7	0.72
G203	中国心脏起搏与心电生理杂志	616	23	-0.38	0.599	14	0.11
G633	中国血液净化	449	31	-0.55	0.478	23	-0.12
G119	中国循环杂志	643	22	-0.35	0.411	28	-0.24
G231	中华肝脏病杂志	2746	4	1.76	1.056	4	0.95
G235	中华高血压杂志	982	15	-0.01	0.757	9	0.40
G639	中华老年多器官疾病杂志	143	42	-0.86	0.235	39	-0.57
G876	中华老年心脑血管病杂志	465	30	-0.53	0.431	26	-0.20
G150	中华老年医学杂志	1010	14	0.02	0.510	20	-0.06
G155	中华内分泌代谢杂志	1548	9	0.56	1.032	5	0.91
G156	中华内科杂志	3238	3	2.26	0.847	8	0.57
G161	中华肾脏病杂志	1477	10	0.49	1.018	6	0.88
G285	中华消化内镜杂志	1271	12	0.28	0.607	12	0.12
G168	中华消化杂志	2249	6	1.26	1.123	2	1.08
G892	中华心衰失常学杂志	384	32	-0.61	0.568	15	0.05
G170	中华心血管病杂志	3705	2	2.73	1.217	1	1.25
G172	中华血液学杂志	1632	8	0.64	0.633	11	0.17
	平均值	994			0.541		

以上数据摘自《中国科技期刊引证报告》(2008年版). 科学技术文献出版社, 160-161.