

合上述实验室检查,能快速诊断新生儿败血症,为早诊断早治疗提供依据,从而降低新生儿死亡率。

参考文献

[1] Manzoni P, Mostert M, Galleao P, et al. Is thrombocytopenia suggestive of organism-specific response in neonatal sepsis[J]. *Pediatr Int*, 2009, 52(2): 206-210.

[2] 余加林, 吴仕孝. 新生儿败血症诊疗方案[J]. *中华儿科杂志*, 2003, 41(12): 897.

[3] Berger C, Uehlinger J, Gillefi D, et al. Comparison of C-reactive protein and white blood cell count with differential in neonates at risk for septicaemia[J]. *Eur J Pediatr*, 1995, 154(2): 138-144.

[4] Griffin MP, Morman JR. Toward the early diagnosis of neonatal sepsis and sepsis-like illness using novel heart rate analysis[J]. *Pediatrics*, 2001, 107(1): 97-104.

[5] Aird WC. The hematologic system as a marker of organ dysfunction in sepsis[J]. *Mayo Clin Proc*, 2003, 78(6): 869-881.

[6] Mavrommatis AC, Theodofidis T, Orfanidou A, et al. Coagulation system and platelets are fully activated in uncomplicated sepsis[J]. *Chil Care Med*, 2000, 28(6): 451-457.

[7] 余加林. 新生儿败血症的诊断和治疗[J]. *实用儿科临床杂志*, 2005, 20(2): 100-101.

[8] 祁从辉, 孟祥翠, 李进. C-反应蛋白测定在感染性疾病中的价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(12): 1373-1374.

[9] Müller B, White JC, Nylén ES, et al. Ubiquitous expression of the calcitonin- α gene in multiple tissues in response to sepsis[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86(1): 396-404.

[10] 郝玲, 任常军, 王炳辉, 等. CD64、降钙素原在新生儿败血症诊断中的价值[J]. *临床儿科杂志*, 2011, 29(3): 217.

[11] van Rossum AM, Wulkail RW, Murphy AM. Procalcitonin as an early maker of infection in neonates and children[J]. *Lancet Infect Dis*, 2004, 4(4): 620-630.

[12] Sachse C, Dressler F, Henkel E. Increased serum procalcitonin in newborn infants without infection[J]. *J Chin Chem*, 1998, 44(61): 1343-1344.

[13] López Sastre JB, Solis DP, Serradilla VR, et al. Evaluation of procalcitonin for diagnosis of neonatal sepsis of vertical transmission [J/OL]. *BMC Pediatr*, 2007-02-26 [2011-11-13], <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17324267>.

[14] Hatherill M, Tibby SM, Sykes K, et al. Diagnostic markers of infection: Comparison of procalcitonin with C-reactive protein and leucocyte count[J]. *Arch Dis Child*, 1999, 81(6): 417-421.

[15] 周明莉, 蔡爱玲, 王雪峰. 降钙素原及 C 反应蛋白测定在新生儿感

• 综 述 •

染性疾病诊断中的作用[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(6): 684-685.

[16] Veleminsk M Jr, Stránský P, Veleminsk M Sr, et al. Relationship of IL-6, IL-8, TNF and sICAM-1 levels to PROM, pPROM, and the risk of early-onset neonatal sepsis[J]. *Neuro Endocrinol Lett*, 2008, 29(3): 303-311.

[17] Panere A, Paefifico L, Rossi N, et al. Interleukin-6 in neonates with early and late onset infection[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 1997, 16(4): 370-375.

[18] Magudurmna MO, Ballot DE, Cooper PA, et al. Serum interleukin-6 measurements in the early diagnosis of neonatal sepsis[J]. *J Trop Pediatr*, 2000, 46(5): 267-271.

[19] Atici A, Satar M, Cetiner S, et al. Serum tumor necrosis factor α in neonatal sepsis[J]. *Am J Perinatol*, 1997, 14(7): 401-404.

[20] Silveria RC, Precianoy RS. Evaluation of interleukin-6, tumor necrosis factor- α and interleukin- 1β for early diagnosis of neonatal sepsis[J]. *Aeta Pediatr*, 1999, 88(6): 647-650.

[21] Berner R, Niemeyer CM, Leitis GU, et al. Plasma levels and gene expression of granulocyte colony-stimulating factor, tumor necrosis factor- α , interleukin (IL)- 1β , IL-6, IL-8 and soluble intercellular adhesion molecule-1, in neonatal early onset sepsis[J]. *Pediatr Res*, 1998, 44(4): 469-477.

[22] Edgar J, Gabriel V, Craig D, et al. Serum sICAM-1 levels in the diagnosis of neonatal infection[J]. *Pediatric Res*, 1998, 44(5): 430-434.

[23] Hansen AB, Verder H, Staun-Olsen P. Soluble intercellular adhesion molecule and C-reactive protein as early marker of infection in newborns[J]. *Perinat Med*, 2000, 28(2): 97-103.

[24] Weirich E, Rabin RL, Maldonado Y, et al. Neutrophil CD11b expression as a diagnostic marker for early onset neonatal infection[J]. *J Pediatr*, 1998, 132(3): 445-451.

[25] Nupponen I, Andersson S, Jarvenpea AL, et al. Neutrophil CD11b expression and circulating interleukin-8 as diagnostic markers for early onset neonatal sepsis[J]. *Pediatrics*, 2001, 108(1): 12-17.

[26] 吴亦栋, 尚世强, 李建平, 等. 细菌 16S rRNA 基因荧光定量 PCR 诊断新生儿败血症[J]. *中华儿科杂志*, 2007, 45(6): 446-449.

[27] Brozanski BS, Jones JG, Krohn MJ, et al. Use of polymerase chain reaction as a diagnostic tool for neonatal sepsis call result in a decrease in use of antibiotics and total neonatal intensive care unit length of stay[J]. *J Perinatol*, 2006, 26(7): 688-692.

(收稿日期: 2011-12-09)

儿童幽门螺杆菌感染检测方法评估

王瑞锋 综述, 刘泉波[△] 审校

(重庆医科大学附属儿童医院感染消化科 400014)

关键词: 幽门螺杆菌; 儿童; 检测; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 05. 025

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)05-0564-03

幽门螺杆菌(Hp)是一种呈螺旋状或 s 形、微需氧革兰阴性杆菌,专一定居于人胃,与人类慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌、胃黏膜相关淋巴样组织淋巴瘤以及部分胃肠道外疾病密切相关。儿童 Hp 感染不仅导致慢性胃炎和消化性溃疡,而且可导

[△] 通讯作者, E-mail: liuqb1223@sina. com。

致铁缺乏甚至缺铁性贫血和生长发育迟缓等疾病^[1]。为了更加全面地了解目前儿童 Hp 感染各种检测方法,笔者查阅并学习大量文献,综述如下。

1 侵入性检测

1.1 快速尿素酶试验(RUT) RUT 利用 Hp 可产生尿素酶将尿素降解为氨气和二氧化碳的机制,通过试纸指示剂显色判断 Hp 感染,此法易受标本内产尿素酶 Hp 密度、“灶性”分布差异、环境温度的影响,且反应较弱时缺乏明确的客观判断标准,使其灵敏度、特异度均较低,不宜作为诊断 Hp 感染的惟一证据。然而,目前 RUT 仍被广泛应用,因其在所有侵入性检测方法中最简便、迅速、价廉。可通过胃镜钳取胃黏膜组织获得标本,也有研究通过钳取扁桃体腺样组织作为检测标本^[2]。

1.2 组织活检及细菌培养 取胃黏膜组织,通过染色或培养检出 Hp 是确诊 Hp 感染的惟一证据。常见染色方法有 Giemsa 染色和革兰染色,操作简便,但特异度、灵敏度不如银染色法。Warthin-Starry 银染色虽然灵敏度高、特异性好,但操作繁琐,故少用。其他染色方法有 HE、碳酸复红、改良 Giemsa、Giemenez、丫啶橙或阿的平荧光、间接免疫荧光和双特异抗体-酶免疫染色法。细菌培养可直接观察 Hp 在胃黏膜上的定植情况,诊断准确率超过 90%,特异度达 100%,灵敏度则因操作者经验不同而有所不同,是临床最常用的诊断 Hp 感染的金标准^[3]。营养培养基有选择性羊血巧克力琼脂平板、空肠弯曲菌选择性培养基和布氏弯曲菌巧克力琼脂。将胃黏膜标本于 2 h 内迅速接种于培养基,使 Hp 保存较高活性,微需氧袋中配套的药剂包为 Hp 提供微需氧环境,比厌氧罐法、烛缸法更方便,微需氧环境更稳定,一般经 3~4 d 可看到菌落。细菌培养同时可进行药敏试验,指导临床治疗。然而 Hp 培养受培养条件和技术、细菌本身以及服药等因素影响,Hp 可发生细胞壁缺陷变形,处于静止和不繁殖状态,可能造成假阴性结果,而且其耗时较长,费用较高,不太适用于临床。

1.3 聚合酶链反应(PCR)及荧光原位杂交(FISH) 目前已可成功 PCR 克隆的 Hp 功能基因包括尿素酶(包括其 A、B 结构亚单位)、细胞毒素、鞭毛素、黏附素及热休克蛋白等。此法可对 Hp 变异、致病相关因子进行研究,不受临床用药的干扰,具有较高的灵敏度及特异度。如根据 *cagA* 或 *vagA* 基因的序列设计引物在组织中进行检测,可判断是否为产毒菌。但因不同 Hp 菌株 *cagA* 基因存在某些差异而影响 Hp 检出率,且该法操作繁琐、耗时长、技术及费用要求高,故主要应用于分子生物学及分子流行病学研究。实时 PCR(RT-PCR)具有快速、准确、简便、技术要求相对较低及能够有效控制 PCR 产物实验室污染等优势,可作为临床实验室常规检测^[4]。与 PCR 一样,也可利用 *cagA* 基因的序列作为探针进行 FISH,根据杂交信号判断是否为产毒菌感染,FISH 还具有能够确定冰冻或福尔马林固定标本中 Hp 耐药性的优点^[5]。

2 非侵入性检测

2.1 ¹³C、¹⁴C 尿素呼气试验(¹³C、¹⁴C-UBT) ¹³C-UBT 简便、快速、重复性好、安全性高,易被家长和患儿所接受,更重要的是能反映全胃的“实时”状态,避免了侵入性检测中 RUT、组织活检等有“灶性”分布的局限性,灵敏度及特异度均不低于侵入性检测,故可作为检测胃黏膜 Hp 感染的诊断性方法之一^[6]。与其他非侵入性检测方法相比,¹³C-UBT 更能反映 Hp 现症感染状况,适宜作为抗 Hp 疗效监测的首选方法^[7]。¹³C-UBT 用气袋收集呼气样本,方便携带和邮寄,有利于扩大检测区域,其缺点是费用高、设备较昂贵。¹⁴C-UBT 作为一种快速、准确、无创

的非侵袭性检测手段,试剂及分析仪器较¹³C-UBT 便宜,但¹⁴C 半衰期长达 5 000 年,对环境可造成放射性污染;虽在使用剂量小于 1 μ Ci,但仍禁用于儿童和孕妇,成年人也不宜反复使用。与¹⁴C 相比,¹³C 为稳定性核素,可以安全地用于儿童及孕妇,并可在短时间内重复检查。

2.2 粪便幽门螺杆菌抗原试验(HpSAT) Hp 可随脱落胃上皮细胞,经粪便排出体外,故 HpSAT 可用于诊断 Hp 现症感染。一般采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测粪便幽门螺杆菌抗原(HpSA)。早在 1998 年,HpSAT 即用于 Hp 检测,其灵敏度和特异度均在 90% 以上^[8]。国内有研究表明该法敏感度 92.66%,特异度 97.20%,与“金标准”比较差异无统计学意义^[9]。ELISA 检测 HpSA 准确性、可靠性及稳定性均较高,且标本收集方便,操作简便、省时,费用低,无放射性污染,无需大型设备,值得临床推广。HpSAT 有多克隆抗体多步法(PP HpSAT)和单克隆抗体一步法(ICS HpSAT)。与¹³C-UBT 相比,PP HpSAT 的灵敏度和特异度相对较好;ICS HpSAT 由于不确切结果的比例较高,其灵敏度相对较好,而特异度相对较低;如果将轻微阳性反应认定为阴性结果,那么 ICS HpSAT 的灵敏度和特异度均相对较高,且 ICS HpSAT 易于操作,10 min 内即可获得反应结果,故适用于门诊检测^[10]。另外,也有报道通过培养法或 PCR 检测粪便中 Hp,但在粪便中 Hp 主要以球状(不能培养)形式存在,使培养法应用受限;在进行 PCR 检测前,可以通过聚丙烯膜过滤、色谱列生化等方法去除粪便中抑制 PCR 的物质,或通过免疫珠分离 Hp^[11]。

2.3 血清学检测

2.3.1 采用 ELISA 检测血清中 Hp 抗体是诊断 Hp 感染的较为传统的方法,具有高灵敏度及特异度,国外有报道分别为 80.0% 和 85.2%^[12],且操作简便,速度快,费用低。抗体的产生一般需数月,因而感染初期检测可出现假阴性结果,导致误诊和延误治疗;当 Hp 被根除后,Hp 抗体仍可维持 1~2 年才能转阴,使其假阳性率最高。所以 Hp 抗体检测难以明确患儿是否为现症感染,也不能对药物疗效做出准确评估。血清学 Hp 抗体检查应用广泛,按抗体种类分为 IgG、IgA 和 IgM 检测。IgG 检测有较高灵敏度,但和同地区成人比较,大多数儿童检测灵敏度大大降低^[13]。血清抗 Hp-IgA 与胃液抗 Hp-IgA 呈正相关,可反映胃黏膜对 Hp 的免疫反应,与活动性胃炎有关^[14]。IgM 阳性是否可作为 Hp 感染活跃的标志尚存在争议。

2.3.2 采用美国 Bioage 公司抗 Hp-IgG 检测卡,采集末梢血(40 μ L)快速检测抗 Hp-IgG 抗体,与其他弯曲菌如空肠弯曲菌、大肠埃希菌、胎儿弯曲菌等均无交叉反应,灵敏度和特异度分别为 95.6%、87.1%,且具有耗时少(5~10 min)、价廉、标本易采集等优点,尤其适于儿童,适用于小型医疗机构,可用于筛查、大规模流行病学调查和 Hp 感染根除后定期随访。

2.3.3 通过免疫印迹(Western Blot)技术检测血清 Hp 毒素和尿素酶相关抗体是较先进的方法。利用抗原、抗体特异性结合的性质,根据毒素的分子量标准判断血清中是否存在抗毒素抗体,从而判断所感染 Hp 是否为高毒株,可为是否需要根除治疗(尤其是无症状者)提供依据。

2.3.4 蛋白芯片技术检测血清 Hp 抗原为近年来新开发的检测方法,结合了基因重组、斑点免疫渗滤及微阵列技术,检测血清 CagA 抗原、尿素酶抗原和热休克蛋白 60 的灵敏度、特异度及符合率均接近改良的 Giemsa 染色和 RUT^[15],且能实现 Hp 感染分型检测及现症感染鉴定,能同时快速检测多项指标,操

作简便,患儿痛苦少,可实现高通量分析,极具广阔发展前景。

2.4 胃液、唾液、牙斑、扁桃腺、腺样体、咽拭子 Hp 抗原的检测 胃是 Hp 惟一长期栖居场所,通过呕吐或胃-口反流, Hp 也可存在于唾液、咽部、扁桃腺、腺样体或牙斑中。PCR 测定胃液、唾液中 Hp 具有较高的灵敏度和特异度;应用荧光 PCR 检测试剂盒,更能克服传统 PCR 产物污染所带来的假阳性问题。牙斑检测采用 Hp 菌体蛋白的单克隆抗体和胶体金技术。李前等^[16]研究表明牙斑与胃黏膜 Hp 抗原检测阳性率差异无统计学意义,且本法可避免某些特异类型 Hp(如 L 型 Hp)因产生尿素酶能力削弱或丧失而导致的假阴性问题,加之其特异度高、取材方便、无创伤性、操作简捷、可重复获取标本、患者无痛苦、费用低、无放射性,易被家长接受,是一种方便又实用的儿童 Hp 感染诊断及治疗后复查的好方法,值得推广应用。应用咽拭子 PCR 检测咽部、扁桃腺、腺样体处 Hp,灵敏度高、特异性强、简便、无创伤、可重复性强,也适于推广和普及^[17]。

2.5 唾液和尿液中 Hp 抗体检测 人唾液中的抗 Hp-IgG 由血液中 IgG 经牙龈袋漏出而来,虽浓度约为血清 IgG 的 1/800,但可用高灵敏度的方法如 ELISA 检测。丁智慧和陈萍^[18]对 240 例上消化道疾病患者通过 ELISA 检测唾液中 Hp 抗体得出敏感度为 89.74%,与血清标本检测差异无统计学意义。国外有报道唾液 Hp 抗体检测的灵敏度在 4 岁以下小儿中仅为 33%,但在学龄期儿童上升到 81%^[19]。唾液检测最大优势是取样方便简单,儿童较配合,具有较大的可操作性。Kato 等^[20]发现 Hp 感染者尿液中也存在特异性抗 Hp 抗体。研究显示,以血清学为标准,采用 ELISA 法检测尿液 Hp 抗体的灵敏度、特异度和准确度分别为 85.4%、95.5%及 94.9%,说明尿液与血液 Hp 抗体检测基本上具有同样的意义^[21]。尿液留取方便,比采集静脉血和大便标本更容易,无痛苦,最易被患儿及家属接受,可作为诊断及监测疗效的一种手段,也适用于 Hp 感染的普查、筛选以及大规模流行病学调查。

3 小 结

Hp 感染大多发生于儿童,儿童 Hp 感染是儿童慢性胃炎、儿童及成人 Hp 相关消化性溃疡和中老年胃癌等疾病的重要病因。1996 年, Hp 被世界卫生组织列为“一级致癌因子”,因此儿童 Hp 检测至关重要。儿童 Hp 检测有多种侵入性与非侵入性方法,受多种因素影响,其灵敏度和特异度不同,各有优势、缺陷及适用领域。随着医学的进步和科技水平的提高,相信具有更高诊断价值的检测方法会不断诞生。

参考文献

[1] Baggell HC, Parkinson AJ, Muth PT, et al. Endemic iron deficiency associated with *Helicobacter pylori* infection among school-aged children in Alaska[J]. *Pediatrics*, 2006, 117(3):396-404.

[2] Eyigor M, Eyigor H, Gultekin B, et al. Detection of *Helicobacter pylori* in adenotonsillar tissue specimens by rapid urease test and polymerase chain reaction[J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2009, 266(13):1611-1613.

[3] Velapattino B, Balqui J, Gilman R, et al. Validation of string test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infections[J]. *J Clin Microbiol*, 2006, 44(7):976-980.

[4] Agudo S, Alarcón T, Urruzuno P, et al. Detection of *Helicobacter pylori* and clarithromycin resistance in gastric biopsies of pediatric patients by using a commercially available real-time polymerase chain reaction after NucliSens semiautomated DNA extraction[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2010, 67(3):213-219.

[5] Caristo E, Parola A, Rapa A, et al. Clarithromycin resistance of *Helicobacter pylori* strains isolated from children, gastric antrum and fundus as assessed by fluorescent in situ hybridization and culture on four-sector agar plates[J]. *Helicobacter*, 2008, 13(7):557-563.

[6] Canete A, Abunaji Y, Alvarez-Calatayud G, et al. Breath test using a single 50-mg dose of ¹³C-urea to detect *Helicobacter pylori* infection in children[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2003, 36(1):105-111.

[7] Tokunaga K, Watanabe K, Tanaka A, et al. Evaluation of ¹³C-urea breath test of con~FUL eradication of *Helicobacter pylori*[J]. *Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi*, 2005, 102(1):176-182.

[8] Trevisani L. Evaluation of a new enzyme immunoassay for detecting *Helicobacter pylori* in feces: a prospective pilot study[J]. *Am Gastroenterol*, 1999, 94(7):1830-1835.

[9] 闰伟, 曹建彪, 王继恒, 等. 受试者工作特征曲线法分析粪便幽门螺杆菌特异性抗原试验的诊断效率[J]. *中华消化杂志*, 2010, 30(3):154-157.

[10] Hauser B, Wybo L, Tshibuabua G, et al. Multiple-step polyclonal versus one-step monoclonal enzyme immunoassay in the detection of *Helicobacter pylori* antigen in the stools of children[J]. *Acta Paediatr Int J Paediatr*, 2006, 95(3):297-301.

[11] Kabir S. Detection of *Helicobacter pylori* in feces by culture, PCR and enzyme immunoassay[J]. *J Med Microbiol*, 2001, 50(14):1021-1029.

[12] Mendoza-Ibarra SI, Perez-Perez GI, Bosques-Padilla FJ, et al. Utility of diagnostic tests for detection of *Helicobacter pylori* in children in northeastern Mexico[J]. *Pediatric Internat*, 2007, 49(7):869-874.

[13] Koletzko S. Noninvasive diagnostic tests for *Helicobacter pylori* infection in children[J]. *Can J Gastroenterol*, 2005, 19(7):433-439.

[14] 王强, 谢跃文, 辛焰. 211 例上消化道症状儿童幽门螺杆菌抗体检测分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(2):268.

[15] Montes H, salmen S, Dolfo W, et al. Valuation of a liquid urease test(LUT)for detection of *Helicobacter pylori*[J]. *Acta Gastroenterologica Latinoamericana*, 2003, 33(2):73-76.

[16] 李前, 杨佩然, 陈笑, 等. 儿童牙垢幽门螺杆菌抗原检测的临床研究[J]. *中国临床实用医学*, 2010, 10(1):101-102.

[17] 徐志刚, 马进, 徐静. 咽拭子 PCR 检测小儿幽门螺杆菌感染的临床探讨[J]. *现代医药卫生*, 2005, 21(24):34-37.

[18] 丁智慧, 陈萍. 唾液抗幽门螺杆菌抗体检测的价值[J]. *数理医药学杂志*, 2010, 23(3):307-309.

[19] Gilger MA, Tolia V, Johnson A, et al. The use of an oral fluid immunoglobulin G ELISA for the detection of *Helicobacter pylori* infection in children[J]. *Helicobacter*, 2002, 7(2):105-110.

[20] Kato M, Asaka M, Saito M, et al. Clinical usefulness of urine-based enzyme lined immunosorbent assay for detection of antibody to *Helicobacter pylori*; a collaborative study in nine medical institutions in Japan[J]. *Helicobacter*, 2000, 5(2):109-119.

[21] Kato S, Tachikawa T, Ozawa K, et al. Urine-based enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of *Helicobacter pylori* infection in children[J/OL]. *Pediatrics*, 2001-06-01[2011-11-26], <http://pediatrics.aappublications.org/content/107/6/e87.full.pdf+html>.