

粪便幽门螺杆菌抗原半定量检测*

杜金龙¹, 罗 瑜^{2#}, 谭延国^{1△}, 张 岩¹, 胡 景³, 刘淑梅¹, 杜海燕¹, 唐春燕¹,
董一红¹, 田 野¹, 李卓敏¹, 翟翠静⁴, 陈伟东⁴, 边洪禹⁴, 王 英⁵, 丁瑞恒⁵

1. 首都医科大学附属复兴医院检验科, 北京 100038; 2. 首都医科大学临床检验诊断学系, 北京 100038;
首都医科大学附属复兴医院; 3. 消化内科; 4. 病理科; 5. 肾内科, 北京 100038

摘 要:目的 建立幽门螺杆菌抗原(Hp-Ag)检测的半定量方法,探索 Hp-Ag 半定量检测结果与胃部幽门螺杆菌(Hp)感染菌量的关系,并就其诊断效能与其他 Hp 的检测方法进行比较评价。**方法** 使用胶体金免疫层析分析仪测定 Hp 阳性者条带的灰度值作为半定量的依据;纳入 363 例消化内科患者和体检健康者,探讨测定其粪便 Hp-Ag 半定量检测、胃组织切片染色镜检法、¹³C 呼气试验、血清 Hp 抗体(Hp-Ab)检测对 Hp 的检测效能、Hp-Ag 半定量检测灰度值与胃组织菌量的关系,以及 Hp 在各年龄段健康体检人群中的检出情况等。**结果** 粪便 Hp-Ag 半定量检测与胃组织切片染色镜检法对 Hp 的检出率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。Hp-Ag 半定量检测灰度值与胃组织切片染色镜检法 Hp 菌量具有相关性($r=0.898, P<0.05$);Hp-Ag 半定量检测对 Hp 的检出率明显高于¹³C 呼气试验(53.97% vs. 34.92%, $P<0.05$)。Hp-Ag 半定量检测与 Hp-Ab 检测对 Hp 的检出率相当,且二者互补性极强,联合检测可将检出率从 48.38%、50.18%提升至 63.53%。>40~60 岁人群中 Hp 检出率最高,达到 54.55%。**结论** 粪便 Hp-Ag 半定量检测,由于其简便、快捷、通量大,可较好地反映 Hp 的菌量,其性能不逊于其他“金标准”方法,值得应用推广。

关键词: 幽门螺杆菌; 粪便幽门螺杆菌抗原半定量检测; 活动性胃炎

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.19.001 **中图法分类号:**R446.5

文章编号:1673-4130(2021)19-2305-04 **文献标志码:**A

Semi-quantitative detection of Helicobacter pylori antigen in feces*

DU Jinlong¹, LUO Yu^{2#}, TAN Yanguo^{1△}, ZHANG Yan¹, HU Jing³, LIU Shumei¹,
DU Haiyan¹, TANG Chunyan¹, DONG Yihong¹, TIAN Ye¹, LI Zhuomin¹, ZHAI Cuijing⁴,
CHEN Weidong⁴, BIAN Hongyu⁴, WANG Ying⁵, DING Ruiheng⁵

1. Department of Clinical Laboratory, Fuxing Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China; 2. Department of Clinical Laboratory Diagnosis, Capital Medical University, Beijing 100038, China; 3. Department of Gastroenterology;
4. Department of Pathology; 5. Department of Nephrology, Fuxing Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China

Abstract: Objective To establish a semi-quantitative detection method for Helicobacter pylori antigen (Hp-Ag), and to explore the relationship between the semi-quantitative results of Hp-Ag and the amount of Hp, and to compare its efficacy with other detection methods for Hp. **Methods** The gray value of Hp positive bands was measured by colloidal gold immunochromatographic analyzer as a semi quantitative basis. A total of 363 patients in Department of Gastroenterology and healthy persons were included. Hp was detected by semi quantitative detection of fecal Hp-Ag, staining microscopy of gastric tissue sections, ¹³C breath test and serum Hp antibody (Hp-Ab). The detection efficiency of various methods for Hp, the relationship between the gray value of Hp-Ag semi quantitative detection and the amount of bacteria in gastric tissue, and the detection of Hp in healthy people of all ages were discussed. **Results** There was no significant difference in the detection

* 基金项目:北京市临床重点专科医学检验科培育项目(京卫医[2020]129号)。
作者简介:杜金龙,男,主管技师,主要从事临床微生物学检验研究。 # 共同第一作者简介:罗瑜,女,本科生在读,主要从事临床检验研究。 △ 通信作者, E-mail: tanyanguo61@126.com。
本文引用格式:杜金龙,罗瑜,谭延国,等. 粪便幽门螺杆菌抗原半定量检测[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(19): 2305-2308.

rate of Hp between fecal Hp-Ag semi quantitative detection and staining microscopy of gastric tissue sections ($P>0.05$). The gray value of Hp-Ag semi quantitative detection was correlated with the amount of Hp bacteria in staining microscopy of gastric tissue sections ($r=0.898, P<0.05$). The detection rate of Hp in Hp-Ag semi quantitative test was significantly higher than that in ^{13}C breath test (53.97% vs. 34.92%, $P<0.05$). Although the detection rates of Hp-Ag and Hp-Ab were similar, they were highly complementary, and their combined detection could increase the positive rate of healthy physical examination from 48.38% and 50.18% to 63.53%. The detection rate of Hp in people aged $>40-60$ was the highest, reaching 54.55%. **Conclusion** The semi-quantitative determination of Hp-Ag in feces, is simple, efficient, and could be applied to large cohort. It can not only precisely reflect the amount of bacteria, but also has good performance, compared to other gold standard methods. It is worthy of clinical use.

Key words: Helicobacter pylori; semi-quantitative detection of fecal Hp antigen; active gastritis

幽门螺杆菌(Hp)感染与胃溃疡、胃癌、萎缩性胃炎、胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤等高度相关^[1]。若患者证实有 Hp 感染,则推荐行根除治疗^[2]。但由于我国人口基数大,全部进行根除治疗并不现实,通常要结合具体病情与其他风险因素再决定是否采取治疗及如何治疗,且评估方法和治疗方案仍在探索^[3]。加之人群中 Hp 自然感染率颇高(我国平均为 50%左右),故加大筛查力度非常重要。目前, Hp 检测“金标准”包括粪便 Hp 抗原(Hp-Ag)检测、胃组织切片染色镜检法、 ^{13}C 呼气试验^[4],目前以 ^{13}C 呼气试验最常用,另外,还可测定血液中的 Hp 抗体(Hp-Ab)^[5]。但 ^{13}C 呼气试验存在需服药、检测通量小、检验前质量控制难度高、实验过程中易传播呼吸道病原体等缺点^[6],而粪便 Hp-Ag 检测不但克服了上述缺点,同时具有很好的检测效能。目前,粪便 Hp-Ag 检测的普及率不高,且大多数以定性形式给出结果^[7-8],尚未实现定量或半定量。Hp-Ag 半定量检测的结果与 Hp 菌量、病理组织的严重程度、年龄、发病风险的关系,尚有待进一步研究。本研究拟对商用粪便 Hp-Ag 测定试剂盒做适当改良,使用胶体金免疫层析分析仪测定 Hp 阳性者条带的灰度值,作为半定量的依据,评估 Hp-Ag 半定量检测与其他 Hp 检测方法的性能,以及上述关切的问题。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 11 月至 2021 年 5 月共 363 例消化科患者和健康体检者,其中男 214 例,女 149 例,年龄 27~96 岁,中位年龄 59 岁,分为如下 3 组,第 1 组:消化科就诊患者,同时行 Hp-Ag 半定量检测、胃组织切片染色镜检法 23 例;第 2 组:消化科就诊患者,同时行 Hp-Ag 半定量检测、 ^{13}C 呼气试验 63 例;第 3 组:健康体检并接受随访者,同时行 Hp-Ag 半定量检测和 Hp-Ab 检测 277 例。

1.2 仪器与试剂 胶体金酶联免疫分析仪(广西埃

韦迪生物科技有限公司)、HCBT-01 全智能红外光谱分析仪与配套 ^{13}C -UBT 试剂盒(深圳中核海德威生物科技有限公司)、Hp-Ag 测定试剂盒(胶体金法)(北京金沃夫生物工程有限公司)、血清 Hp 抗体试剂盒(胶体金法)(北京康美天鸿生物科技有限公司)、硼酸亚甲蓝染液(福州迈新生物技术开发公司)、10%甲醛溶液、石蜡、载玻片、二甲苯、95%乙醇、75%乙醇。

1.3 方法

1.3.1 粪便 Hp-Ag 半定量检测 用取样棒取 50 mg 标本,插入样品处理管中充分摇匀,滴加 2~3 滴样品液至胶体金反应板的加样孔中。反应 15 min,将反应板条插入胶体金免疫层析分析仪中,读取灰度值并记录。判定标准:阳性为质控线和检测线均呈现红色线条,且检测线灰度值 ≥ 15 ;检测线灰度值 < 15 则为阴性;无效为质控线无红色线条。

1.3.2 胃组织切片染色镜检法 用石蜡固定的 2~3 mm 胃组织,常规制备石蜡切片。染色前用二甲苯脱石蜡 20 min,再用 95%乙醇与 75%乙醇梯度清洗残留的二甲苯后,用 Hp 硼酸亚甲蓝染色液染色 3 min 冲洗、晾干,显微镜下阅片至少 10 个高倍视野,并记录平均高倍视野的细菌数。

1.3.3 ^{13}C 呼气试验 向第 1 个气袋内吹气后盖紧袋口;口服 1 粒尿素 ^{13}C 胶囊,静坐 30 min;向第 2 个气袋内吹气后盖紧袋口。将气袋分别放于红外光谱分析仪上进行 ^{13}C 测定。 ^{13}C -DOB > 4.0 判断为 Hp 阳性。

1.3.4 Hp-Ab 检测 采集空腹静脉血 2 mL,分离血清。按说明书要求测定 Hp-Ab;结果判定以说明书的判定规则为准,测试条带比对胶体金分析比色卡,判定显色的程度并记录数值。

1.4 统计学处理 使用 SPSS26 软件进行数据处理及统计分析。计数资料以频数或百分率表示,组间采用配对 χ^2 检验比较;符合正态分布的计量资料以

$\bar{x}\pm s$ 表示,非正态分布的计量资料以 $M(P_{25},P_{75})$ 表示,采用秩和检验或秩相关分析。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 粪便 Hp-Ag 半定量检测与胃组织切片染色镜检法的效能比较 在第 1 组中,两种“金标准”方法任一阳性者为真阳性,共检出 13 例阳性。Hp-Ag 半定量检测检出率为 56.52%(13/23),灵敏度为 100.00%(13/13);胃组织切片染色镜检法的检出率为 47.83%(11/23),平均菌量为 25.8 个/高倍视野,灵敏度为 84.61%(11/13),两种方法的符合率为 91.3%,检出率比较差异无统计学意义($P=0.50$)。Hp-Ag 半定量检测阳性标本的灰度值与胃组织切片染色镜检法 Hp 菌量高度符合 3 次拟合曲线关系($r=0.898,P<0.05$),见图 1。

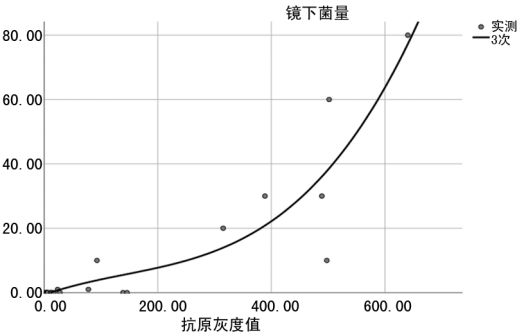


图 1 粪便 Hp-Ag 半定量检测灰度值与胃组织切片染色镜检法 Hp 菌量之间的拟合曲线

2.2 粪便 Hp-Ag 半定量检测与¹³C 呼气试验的效能比较 在第 2 组中,两种“金标准”方法任一阳性者为真阳性,共检出 35 例阳性。Hp-Ag 半定量检测检出率为 53.97%(34/63),灵敏度为 97.14%(34/35);¹³C 呼气试验检出率为 34.92%(22/63),灵敏度为 62.86%(22/35),两种方法符合率为 77.78%,两种方法检出率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。Hp-Ag 半定量检测阳性标本的灰度值与¹³C 呼气试验的 DOB 值之间符合线性相关关系($r=0.289,P<$

0.05),见图 2。

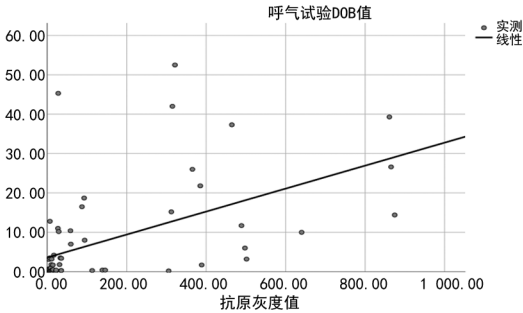


图 2 粪便 Hp-Ag 半定量检测灰度值与¹³C 呼气试验 DOB 值间相关性

2.3 粪便 Hp-Ag 半定量检测与 Hp-Ab 检测的效能比较 第 3 组受试者中,Hp-Ag 半定量检测、Hp-Ab 检测的检出率分别为 48.38%(134/277)、49.82%(138/277),联合检出率为 63.53%(176/277),两种方法符合率为 71.2%,检出率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。Hp-Ag 半定量检测阳性标本的灰度值与 Hp-Ab 比色卡判定值之间符合对数拟合曲线关系($r=0.125,P<0.05$)。

2.4 健康体检人群 Hp-Ag 半定量检测结果与年龄的关系 277 例健康体检人群 Hp-Ag 的总体检出率为 48.38%,27~40 岁、>40~60 岁、>60~96 岁人群分别为 47.06%(16/34)、54.55%(48/88)、45.16%(70/155)。阳性者中灰度值分布在 15~50、>50~200、>200~600、>600 者分别占 28.36%、38.06%、25.37%、8.21%。Hp-Ag 阳性的 27~40 岁人群,其灰度值在 >50~200 的比例明显高于其他年龄段(62.50% vs. 43.75%,28.57%, $P<0.05$);在年龄 27~40 岁与>40~60 岁的人群中,Hp-Ag 阳性人群的灰度值在 >50~200 的比例最高($P<0.05$),而>60~96 岁的人群中,Hp-Ag 阳性人群的灰度值在各区间的比例比较,差异无统计学意义($P=0.168$)。见表 1。

表 1 粪便 Hp-Ag 半定量检测灰度值与患者年龄之间的统计表[n 或 n(%)]

年龄(岁)	n	阳性	灰度值(15~50)	灰度值(>50~200)	灰度值(>200~600)	灰度值(>600)	P
27~40	34	16	2(12.50)	10(62.50)	4(25.00)	0(0.00)	0.014
>40~60	88	48	14(29.27)	21(43.79)	11(22.92)	2(4.17)	0.005
>60~96	155	70	22(31.43)	20(28.57)	19(27.14)	9(12.86)	0.168
P			0.323	0.045	0.879	0.275	

3 讨 论

本研究结果显示,粪便 Hp-Ag 半定量检测与胃

组织切片染色镜检法对 Hp 的检出率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。Hp-Ag 半定量检测对 Hp 的

检出率明显高于¹³C 呼气试验,差异有统计学意义($P < 0.05$)。可见作为非侵入性检查的 Hp-Ag 半定量检测,可替代胃组织切片染色镜检法及¹³C 呼气试验。

Hp-Ag 半定量检测的检出率明显高于¹³C 呼气试验,这与部分文献报道不符^[9-10]。其可能的原因:尿素酶可能会受到药物的影响,通过改变胃环境或者抑制 Hp 菌株生长繁殖而导致¹³C 呼气试验结果出现假阴性或假阳性,¹³C 呼气试验还可能受胃肠道动力或胃结构的影响,而造成假阴性或假阳性结果等^[11-12]。

本研究通过改良 Hp-Ag 试验结果的判定方式,所得半定量的灰度值结果与胃组织切片镜检平均每高倍视野的细菌数量存在相关性,而¹³C 呼气试验与菌量间无相关性。这也为将来通过 Hp-Ag 半定量的结果估算个体携带的 Hp 菌量、判定发病风险、观察药物干预的治疗效果提供重要依据^[13]。

本研究发现, Hp-Ag 半定量检测与 Hp-Ab 检测具有非常高的互补性,二者联合检测可将健康体检人群 Hp 的检出率由各自的 48.38% 与 50.18% 提升至 63.53%。二者具有互补性的原因可能为: Hp 感染初期, Hp-Ag 呈阳性而 Hp-Ab 尚未产生;部分重症患者免疫力低下,导致 Hp-Ab 产生少;药物已经根除 Hp, Hp-Ag 转阴,但 Hp-Ab 仍可持续 6 个月以上^[14]。故建议二者联合检测,同时分析 Hp-Ag 与 Hp-Ab 的结果,可以明显提升 Hp 的检出率。

本研究中, Hp 在健康体检人群中的检出率为 48.38%, 与我国平均感染率基本相符。进一步分析显示, >40~60 岁人群中 Hp 检出率最高, 达到 54.55%, Hp 感染很难自愈, 一旦感染如不治疗将终身受累。关于携带的 Hp 菌量, 由 Hp-Ag 半定量检测的灰度值判定, 青、中年大部分阳性者以低、中菌量为主, >60 岁阳性者, 则以中、高菌量为主。其原因可能与老年患者免疫力低下, 胃部组织供血不足等原因导致体内清除 Hp 能力降低有关^[15]。

Hp-Ag 半定量检测的灵敏度优于¹³C 呼气试验和胃组织切片染色镜检法, 且 Hp-Ag 半定量检测灰度值能准确地反映胃部 Hp 的带菌量。另外 Hp-Ag 半定量检测与 Hp-Ab 检测具有较好的互补性, 二者联合检测可提高 Hp 检出率。

参考文献

- [1] 吕晓洋, 金海燕. 幽门螺杆菌感染诊治进展[J]. 吉林医学, 2021, 42(5): 1245-1247.
- [2] 刘文忠, 谢勇, 吕华农, 等. 第五次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告[J]. 中华消化杂志, 2017, 22(6): 346-360.
- [3] 王雪, 李异玲. 幽门螺杆菌感染诊断方法的研究进展[J]. 医学综述, 2020, 26(5): 955-959.
- [4] 陈晨, 周学军, 何英. 幽门螺杆菌感染诊断的研究进展[J]. 中国当代医药, 2020, 27(19): 27-30.
- [5] 吕农华, 周丽雅, 饶克勤, 等. 幽门螺杆菌感染基层诊疗指南(2019 年)[J]. 中华全科医师杂志, 2020, 19(5): 397-402.
- [6] 陈晏湖, 令狐恩强, 翟亚奇, 等. ¹³C 尿素呼气试验质量控制专家建议[J]. 中华消化内镜杂志, 2021, 38(3): 169-172.
- [7] 杨洁. 幽门螺杆菌粪便抗原用于幽门螺杆菌感染检验观察[J]. 临床研究, 2019, 27(1): 125-126.
- [8] WANG Y K, KUO F C, LIU C J. Diagnosis of helicobacter pylori infection: current options and developments [J]. World J Gastroenter, 2015, 21(40): 11221-11235.
- [9] 王沁芳. ¹³C 呼吸试验与粪便抗原检测试验对儿童幽门螺杆菌感染的诊断价值[J]. 中国实用医刊, 2019, 46(16): 26-29.
- [10] 朱娟, 姜红峰. 安速幽门螺杆菌快速检测法与¹³C 呼吸测试法诊断疑似消化性溃疡的性能比较[J]. 检验医学, 2018, 33(1): 101-102.
- [11] 曾妙, 杨三三, 李雪诺, 等. 幽门螺旋杆菌的检测方法研究现状[J]. 海南医学, 2020, 31(6): 784-788.
- [12] SABBAGH P, MOHAMMADNIA-AFROUZI M, JAVANIAN M, et al. Diagnostic methods for Helicobacter pylori infection: ideals, options, and limitations [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2019, 38(1): 55-66.
- [13] 朱海山, 招杰, 苏有盛. 幽门螺杆菌感染和慢性胃炎患者胃黏膜病理变化的关系[J]. 慢性病学杂志, 2018, 20(3): 292-293.
- [14] 林美梅. 幽门螺旋杆菌的抗原检测与血清抗体检测的对比研究[J]. 中国卫生标准管理, 2019, 10(24): 103-106.
- [15] 季红莉, 路琴, 黄慧, 等. 老年患者幽门螺杆菌感染根除失败的原因[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2019, 18(1): 26-29.

(收稿日期: 2021-02-12 修回日期: 2021-07-12)