

• 检验仪器与试剂评价 •

4 种幽门螺杆菌抗体检测试剂盒筛查幽门螺杆菌感染的性能研究

赵学峰¹, 赵敏儿², 罗丽贞¹, 区海萍¹, 李毅坚¹, 蔡 甜¹

(1. 广东省佛山市南海人民医院检验科, 广东佛山 528000; 2 广东省云浮市中医院检验科, 广东云浮 527300)

摘 要:目的 评价 4 种幽门螺杆菌抗体试剂盒筛查幽门螺杆菌感染的能力, 为临床选择诊断方法提供依据。方法 以¹⁴C-尿素呼气试验作为参比对照方法, 选取 3 种基于胶体金免疫层析原理、1 种基于颗粒增强胶乳浊度测定法的幽门螺杆菌抗体试剂盒为评价试剂盒, 对 114 例研究对象进行检测, 用 χ^2 检验进行统计学处理。结果 与参比方法对比, 4 种评价试剂盒间对幽门螺杆菌感染诊断的灵敏度为 8%~60%, 特异度为 64%~81%, 一致性为 46%~68%, 差异有统计学意义($P<0.05$); 4 种评价试剂盒相互之间的一致性为 61%~72%, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 4 种幽门螺杆菌抗体检测试剂盒对幽门螺杆菌感染的筛查有一定作用, 多种方法联合检测更佳。

关键词: 螺杆菌, 幽门; 抗体; 试剂盒, 诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.17.042

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)17-2131-03

自 1983 年澳大利亚学者首次从胃炎患者胃黏膜中分离出幽门螺杆菌(Hp)以来, 诸多研究证实, Hp 感染不但是慢性胃炎与消化性溃疡的主要致病因素, 而且与胃癌、胃黏膜相关淋巴瘤组织淋巴瘤, 以及一些胃肠外疾病密切相关。1996 年, WHO 将 Hp 列入人类五大生物致癌因素之一。目前 Hp 感染已经发展成世界性问题。流行病学调查显示, Hp 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 Hp 感染率调查的分析显示人群中 Hp 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^[1]。我国及其他发展中国家属于 Hp 感染的高发区。2001~2004 年由中华医学会进行的一项涉及全国 20 个省市的自然人群 Hp 流行病学调查显示, 我国 Hp 感染率为 40%~90%, 平均为 59%^[2]。另外 Hp 感染治疗的短期效果虽好但易复发用, 已经发展为严重危害我国居民健康的公共卫生问题。

选择适合的检测方法及早诊断 Hp 感染并进行治疗监测, 对消化道内外疾病的早期预防、综合治疗和防止复发显得尤其重要。目前用于诊断 Hp 感染的方法多种多样, 基于胶体金免疫层析测定 Hp 抗体的方法具有滞后性、不能判断现症感染, 而粪便 Hp 抗原检测也因标本感官不良和阳性率低下而致较少医院开展, 胃部活检组织的尿素酶试验也因侵入性操作带给患者的痛苦和假阳性而难以大范围普查, 新近出现的颗粒增强胶乳比浊免疫测定方法大大方便了小分子物质在全自动生化仪器的快速便捷的检测, 且其能定量的有点可能会对疗效监测、复发的判断有临床价值。根据目前 Hp 检测方法的现状, 笔者拟以呼气试验作为对照方法, 评价 3 种基于胶体金免疫层析技术、1 种基于颗粒增强免疫比浊法的 Hp 抗体试剂盒对 Hp 感染诊断的效能。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取本院消化内科有消化道感染症状的患者, 平均年龄 57(19~89)岁, 男性 51 例, 女性 62 例。以¹⁴C-尿素呼气试验为参比方法, 阳性例数为 72 例, 阴性例数为 41 例。

1.2 仪器与试剂 Hp 检测仪; 日立 7600 型全自动生化分析仪; 基于胶体免疫层析技术的抗体检测试剂盒分别由上海凯创生物技术有限公司(SH-KC)、深圳惠安生物科技有限公司(SZ-HA)和深圳康美生物科技有限公司(SZ-KM)提供; 基于颗粒增强免疫比浊法的 Hp 抗体试剂盒由深圳市亚辉龙生物科技有限公司提供(SZ-YHL)。

1.3 方法

1.3.1 ¹⁴C-尿素呼气试验 严格按照测试盒说明书操作, 受检者在检查前禁食 4~6 h, 受试前漱口, 用约 120 mL 温饮用水送服尿素¹⁴C 胶囊 1 粒, 静坐 10~20 min, 用测试盒提供的气体收集板正确收集受检者呼出的气体样品, 5 min 后, 利用 Hp 检测仪测量样品每分钟衰变数(DPM), 记录相关数据。结果判断标准: 待测样品 DPM $\geq$ 140 为阳性, DPM<140 为阴性。

1.3.2 胶体金免疫层析检测 3 种基于胶体金免疫层析操作均按照说明书所示检测研究对象血清中的 Hp 抗体。

1.3.3 免疫胶乳浊度法检测 在日立 7600 型全自动生化分析仪上进行检测, 按照说明书设置检测参数, 避免使用严重脂血、黄疸、溶血及污染的标本。检测值小于 12 AU/mL 为阴性, 检测值在 12~15 AU/mL 为可疑, 检测值大于 15 AU/mL 为阳性, 当检测结果为可疑时, 需重新检测, 若仍为可疑, 需在 1~2 周后重新采样检测。当样本检测值大于 60 AU/mL, 提示 Hp 现症感染。

1.4 统计学处理 以¹⁴C-尿素呼气试验作为评价标准, 按照诊断试验评价方法, 采用四格表分析, 计算出敏感度、特异度、准确性、阳性预期值和阴性预期值。方法间比较用 χ^2 检验, 当 $P<0.05$, 认为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 与¹⁴C-尿素呼气试验相比, 4 种评价试剂盒表现出不同的敏感度、特异度与一致性, 见表 1~2, 敏感度最低的是 SZ-KM 试剂盒, 敏感度最高的是 SZ-HA 试剂盒, 但也只达到 60%, 其与呼气试验的一致性达到 68%, 在 4 种评价试剂盒中最高。

表 1 4 种评价试剂盒与¹⁴C-尿素呼气试验结果比较(n)

¹⁴ C-尿素 呼气试验	SZ-YHL		SZ-KM		SH-KC		SZ-HA	
	+	-	+	-	+	-	+	-
+	28	44	16	56	37	35	43	29
-	15	27	6	36	9	33	8	34

2.2 4 种评价方法之间相互比较 除了 SZ-YHL 颗粒增强胶乳浊度测定试剂盒与 SZ-HA 试剂盒、SH-KC 试剂盒一致性差别有统计学意义外($P<0.05$), 其他试剂盒之间一致性差别无统计学意义($P>0.05$), 见表 3~4。

2.3 颗粒增强免疫胶乳比浊法与¹⁴C-尿素呼气试验相关性分析 SZ-YHL 公司的颗粒增强免疫胶乳比浊法与¹⁴C-尿素呼

气试验 Pearson 相关系数为 0.104 ($P=0.403$); 以¹⁴C-尿素呼气试验组 DPM>140 作为阳性判定标准, 颗粒增强免疫胶乳比浊法无法对参比组数据作出有效判定, 不能进行 ROC 曲线分析。

表 2 4 种评价试剂盒与¹⁴C-尿素呼气试验相比的
敏感度、特异度和一致性 (%)

项目	SZ-YHL	SZ-KM	SH-KC	SZ-HA
敏感度	39	8	51	60
特异度	64	86	79	81
一致性	48	46	61	68

表 3 4 种评价试剂盒之间相互比较数据 (n)

试剂盒		SH-KC		SZ-YHL		SZ-KM	
		+	—	+	—	+	—
SZ-HA	+	32	19	25	26	20	30
	—	14	49	18	45	3	61
SH-KC	+	/	/	24	22	18	28
	—	/	/	19	49	4	64
SZ-YHL	+	/	/	/	/	15	28
	—	/	/	/	/	6	65

/: 无数据。

表 4 4 种评价试剂盒之间相互一致性结果 (%)

试剂盒	SH-KC	SZ-YHL	SZ-KM
SZ-HA	71	61	71
SH-KC	/	64	72
SZ-YHL	/	/	70

/: 无数据。

3 讨 论

Hp 感染与多种疾病有关, 尤其是消化系统的疾病。Hp 感染后, 大部分表现为无症状的带菌者, 部分发展成消化性溃疡, 近来的研究又揭示了 Hp 感染与胃癌及胃淋巴瘤也有一定的关系^[3]。Hp 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两类^[4]。侵入性法主要有 Hp 培养、胃黏膜直接涂片革兰染色镜检、胃黏膜组织切片染色镜检、快速尿素酶试验、分子生物学方法等; 而非侵入性法主要包括¹³C 或¹⁴C 尿素呼气试验、¹⁵N 尿氮排泄试验、粪便 Hp 抗原检测、Hp 抗体检测等; 生物芯片检测技术在 Hp 耐药基因的检测^[5-6]、Hp 抗原检测及蛋白纯化^[7]等方面也取得了一定的进展。非侵入性方法无创伤, 易为患者所接受, 而其中 Hp 血清抗体检测, 更是因取样方便、快捷以及检测操作简捷、省时、对仪器要求不高, 成为临床上一种比较常用的方法。但由于不同研究者所采取的研究方法不同, 所得出的结论也各异。为了确定合理的 Hp 的血清抗体检测方法, 本研究以¹⁴C-尿素呼气试验检测为评价标准对临床上用到的 4 种不同的 Hp 血清学检测方法进行了比较。

¹⁴C-尿素呼气试验就是根据 Hp 的尿素酶能迅速将尿素分解为二氧化碳和氨气的原理, 给 Hp 感染的患者口服尿素¹⁴C 胶囊后, 尿素被分解产生同位素标记的二氧化碳经血液进入肺而呼出体外, 收集呼气样品测定¹⁴CO₂ 的量即可判断是否有

Hp。由于口服¹⁴C 尿素到达胃后呈均匀分布, 故只要在¹⁴C 尿素接触的部位存在 Hp 感染, 就可灵敏地检测到, 可反应“全胃”状况^[8], 能克服胃内 Hp 灶性分布的局限性及取材局限的缺点, 避免了活检标本 Hp 分布不均造成的假阴性结果。在中国和欧洲的 Hp 共识意见中,¹⁴C-尿素呼气试验被首选推荐为确诊 Hp 现症感染及判断 Hp 根除的非侵入性方法。国内外有文章报道尿素呼气试验被认为是目前除培养之外诊断 Hp 感染的“金标准”^[8]。基于此, 本文选取¹⁴C-尿素呼气试验为评价标准。

SZ-YHL 的颗粒增强免疫胶乳浊度测定法采用的基本原理是将 Hp 抗原吸附于乳胶颗粒上, 通过孵育使稀释的人血清中的特异性抗体与抗原结合, 经孵育后, 产生的吸光度变化量与检测样本中的特异性抗体浓度呈正比, 这种检测方法能对血清中的抗 Hp-IgG 抗体准确定量。其他 3 种基于胶体金原理的评价试剂盒均采用检测抗体是针对 Hp 的尿素酶抗体, 在本研究中不同试剂盒表现不一, 可能抗体来源不同和试剂盒制造工艺是造成结果差异的主要因素。

Hp 菌体表面存在多种抗原组分, 如尿素酶、黏附素、脂多糖等, 这些抗原刺激宿主产生抗体, 这些免疫反应均为非保护性, 但可为临床或流行病学筛检 Hp 感染者提供简便的血清学方法。以往认为血清学方法除特别适用于人群中 Hp 感染情况的流行病学调查外, 对 Hp 感染的临床诊断价值不大, 但近年来认为 Hp 血清学检测可以减少内镜检查次数, 如果将血清学阴性患者排除在内镜检查以外, 内镜检查数将减少近 22%, 但是本研究结果显示 Hp 血清学检测与呼气试验的一致性介于 48%~68%, Hp 血清学检测可能仅能起到筛选可疑 HP 感染人群作用或流行病学调查。

文献报道血清学方法检测 Hp 感染存在局限性^[9]。血中 Hp 抗体于 Hp 感染后经过一定时间 (约 1~3 个月) 出现, 有较好的特异性, 通常需 1 年转阴, 部分病例超过 2 年; 感染早期或免疫力低下者感染 Hp 后并不一定有抗 Hp 抗体产生且抗 Hp 抗体的产生个体差异性较大, 故 Hp 抗体检测结果通常不能区分患者为现症感染还是既往感染^[10-11]。

本研究中选择的病例均有临床症状, 试验结果显示 4 种评价方法的灵敏度、特异度、与¹⁴C-尿素呼气试验的符合率都很低, 尽管血清学方法检测较内镜等侵入性方法简便、节省, 但难以判断既往或现症 Hp 感染^[12-14]; 本研究也显示基于相同检测原理的 3 种试剂盒表现不同检测能力, 在检测抗体选择、试剂制造工艺等方面值得进一步的探讨, 随着医学研究的不断深入, Hp 的检测方法必将不断取得突破性进展。

参考文献

[1] Marie MAM. Seroprevalence of Helicobacter pylori infection in large series of patients in an urban area of Saudi Arabia[J]. Korean J Gastroenterol, 2008, 52(4): 226-229.

[2] 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[J]. 中华医学信息导报, 2005, 20(21): 9.

[3] Kuipers EJ, Klinkenberg-Knol EC, Vandenbroucke-Grauls CM, et al. Role of Helicobacter pylori in the pathogenesis of atrophic gastritis[J]. Scand J Gastroenterology, 1997, 223: 28-34.

[4] 王坚. 多巴胺转运体与帕金森病[J]. 国外医学: 神经病学、神经外科学分册, 1998, 25(5): 249-251.

[5] Chen S, Li Y, Yu C. Oligonucleotide microarray: a new rapid method for screening the 23S rRNA gene of Helicobacter pylori for single nucleotide polymorphisms associated with clarithromy-

- cin resistance[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2008, 23(1):126-131.
- [6] Xuan SH, Zhou YG, Shao B, et al. Enzymatic colorimetry-based DNA chip: a rapid and accurate assay for detecting mutations of the 2_{3s} rRNA gene in Helicobacter pylori of clarithromycin resistance[J]. J Med Microbiol, 2009, 58(Pt 11):1443-1448.
- [7] 孙艳艳, 王雅杰, 康熙雄. 蛋白芯片技术检测幽门螺杆菌感染的临床价值[J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 16(12):1347-1349.
- [8] Tzen KY, Lu CS, Yen TC, et al. Differential diagnosis of Parkinson's disease and vascular parkinsonism by 99Tcm-TRODAT-1[J]. J Nucl Med, 2001, 42(3):408-413.
- [9] 李能, 李妮. CagA 抗体检测用于鉴定幽门螺杆菌高毒株感染的评价[J]. 中国热带医学, 2007, 7(12):2199-2201.
- [10] Crabtree JE, Shallcross TM, Heatley RV, et al. Evaluation of a

- commercial ELISA for serodiagnosis of Helicobacter pylori infection[J]. J Clin Pathol, 1991, 44(4):326-328.
- [11] Patel P, Mendall MA, Khulusi S, et al. Salivary antibodies to Helicobacter pylori: screening dyspeptic patients before endoscopy[J]. Lancet, 1994, 344(8921):511-512.
- [12] 胡伏莲, 周殿元. 幽门螺杆菌感染的基础与临床[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2002:253-254.
- [13] 曾立军, 雷均平, 薛晓英. 金标法与酶免法检测胃幽门螺杆菌的比较[J]. 现代检验医学杂志, 2002, 17(3):33.
- [14] 成虹, 胡伏莲. 幽门螺杆菌现症感染非侵入性检测方法[J]. 中国医药导刊, 2007, 9(2):98-99.

(收稿日期:2012-04-09)

• 检验仪器与试剂评价 •

SYSMEX XS-800i 血液分析仪白细胞分类异常的原因分析及处理措施

蔡雪梅

(云南省昆明市第一人民医院/昆明医学院附属甘美医院检验科, 云南昆明 650011)

摘要:目的 分析 Sysmex XS-800i 血液分析仪白细胞分类异常的常见问题。方法 对日常工作中分类异常的样本进行反复探索, 总结出现问题的原因及处理措施。结果 针对不同的原因做出相应的处理措施, 保证全自动血液分析仪血细胞检验质量。结论 检验人员应重视影响血液分析仪的各种因素并对其综合分析, 进行必要的复检和人工复片分类, 防止漏诊及误诊。

关键词:血液分析仪; 白细胞分类; 设备失效

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.17.043

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)17-2133-02

Sysmex XS-800i 血液分析仪是西森美康公司生产的五分类血细胞计数仪, 采用半导体激光流式细胞术、核酸染色技术和流体力学聚焦原理结合计算机数据处理对血液细胞进行分析, 具有方便、快捷、时效性强等特点, 有效地提高了临床血液学细胞检验的质量和效率^[1-2]。本院 2008 年将该仪器投入检验科门诊化验室使用, 配套质控品进行室内质控, 在日常工作中, 有些样本出现白细胞分类异常提示, 笔者针对出现的异常问题做出了综合细致分析, 并采取相应的处理措施保证血液学细胞检验的质量。现将 4 年来使用中的体会总结如下。

1 白细胞(WBC)计数误差与分类不出及处理措施

1.1 WBC 计数过高或过低 计数超过 $25 \times 10^9/L$ 或小于 $2.0 \times 10^9/L$ 。如白血病患者, 其 WBC 数量、形态、大小及细胞核等均发生改变, 出现核左移、不成熟粒细胞等, 表现为分类不出或图形发生漂移且显示灰色; 门诊初诊或放化疗后复查患者 WBC 计数少但未出现报警或分类不出。如此诸多因素的异常样本在主屏界面上没有分类结果, 而在研究界面是有分类结果的, 这种分类结果可信度很低, 只能在实验室内部做参考不能报告, 特别是 WBC 计数少的病例应重视, 否则容易造成血液病的漏诊^[3]。措施: 人工推片分类镜检确认 WBC 类别; 对 WBC 计数少者, 应该先在低倍镜下浏览全片, 寻找有无异常细胞, 再用油镜分类, 可发现数量较少的瘤细胞。将准确的检验结果提供给临床, 避免误导医生和患者, 并能在一定程度上防止血液病的漏诊。

1.2 有核红细胞(NRBC)引起 WBC 假性偏高 有些疾病血象中可见到发育各阶段的红细胞(如溶血性贫血、严重感染、红白血病、红白血病等), NRBC 的散射光强度和荧光强度与淋巴细胞相近, 引起 WBC 假性增高, 仪器会提示 NRBC 可能存在, NRBC 增多不仅影响 WBC 计数也影响分类。措施: 应人工推片镜检校正 WBC 计数值(手工分类计数 100 个 WBC 中镜下

看到的 NRBC 个数, 并同时观察红细胞形态), WBC 校正公式为 $WBC \text{ 校正数值} = \text{校正前 WBC 数} \times [100 / (100 + NRBC \text{ 数})]$ ^[4]。报告中备注红细胞形态。

1.3 静脉采血不通畅引起血小板(PLT)聚集干扰 WBC 计数及分类不出 采血过程中因操作缓慢、穿刺不顺、有组织液混入, 或因采血后与抗凝剂混合不均匀、混合过慢等均可使 PLT 发生聚集, 形成大 PLT^[5]。虽然 XS-800i 五分类仪采用荧光染色技术能将大 PLT、聚集 PLT、难溶 RBC 等大颗粒排除(因这些大颗粒荧光强度没有或很低), WBC 分类准确度比三分类高, 但干扰 WBC 计数, 仪器出现 DIFF 通道 WBC 分类散点图杂乱异常, 或显示分类不出; PLT 聚集(PLT Clumps)报警。措施: 人工推片镜检, 对血片血细胞情况进行镜下评估是否相符, 进行人工 WBC 分类, 若有 PLT 聚集现象则重新采血检测。

2 PLT 计数误差及处理措施

2.1 PLT 聚集引起 PLT 计数假性偏低 (1)PLT 聚集时, 多个 PLT 聚集仪器识别时当成 1 个 PLT 计数, 或黏附在白细胞/红细胞上的 PLT 未被计数而引起 PLT 计数假性减低。措施: 手工计数 PLT, 同时人工推片镜检观察 PLT 形态及分布, 二者结合出报告。(2)巨大 PLT: 血细胞分析仪血小板的检测阈值一般在 $2 \sim 35 \text{ fL}$, 正常血小板体积主要集中在 $2 \sim 20 \text{ fL}$, WBC 识别体积在 $35 \sim 450 \text{ fL}$, 由于某些 PLT 太大超过检测阈值而未被计数, 造成 PLT 计数假性减少而 WBC 计数假性增高。判断: 仪器 DIFF 通道白细胞分类散点图杂乱, 血涂片上见巨大 PLT。措施: 用手工方法对 WBC 进行计数或校正 WBC 数值即手工分类计数 100 个 WBC 遇到的巨大 PLT 数, 按公式计算 $WBC \text{ 校正数值} = \text{校正前 WBC 数} \times [100 / (100 + \text{巨大 PLT})]$ 。(3)卫星现象: PLT 聚集在中性粒细胞周围的现象称为卫星现象^[6], 公认的原因是在用 EDTA 盐抗凝的初期即血液与 EDTA-K₂ 抗凝剂接触前 15 min 内可能出现, EDTA 抗