



## 幽门螺杆菌检测技术研究进展及展望

李雅倩<sup>1,2,3#</sup>, 刘家奇<sup>1,2,3#</sup>, 朱晓芳<sup>4</sup>, 段强德<sup>1,2,3\*</sup>, 朱国强<sup>1,2,3\*</sup>

1 扬州大学兽医学院, 江苏 扬州 225009

2 江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 江苏 扬州 225009

3 教育部农业与农产品安全国际合作联合实验室和江苏省动物重要疫病与重要人畜共患病防控技术国际合作联合实验室, 江苏 扬州 225009

4 扬州大学临床医学院皮肤科, 江苏 扬州 225009

李雅倩, 刘家奇, 朱晓芳, 段强德, 朱国强. 幽门螺杆菌检测技术研究进展及展望. 微生物学报, 2022, 62(5): 1645–1655.

Li Yaqian, Liu Jiaqi, Zhu Xiaofang, Duan Qiangde, Zhu Guoqiang. Research progress of detection technology of *Helicobacter pylori* and beyond. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(5): 1645–1655.

**摘要:** 幽门螺杆菌是(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是导致人类多种胃肠疾病的主要病因, 通过多种毒力因子导致各种疾病的发生和发展。鉴于目前幽门螺杆菌缺少商业化疫苗且多重耐药性问题日益严重, 临床上对其根除效果不佳, 因此, 精准的检测技术是预防幽门螺杆菌感染的关键, 也是评估感染后治疗效果的重要手段。幽门螺杆菌的检测方法主要包括尿素呼气试验、快速尿素酶试验、粪便抗原检测、血清学检查、内镜检查、组织学病理检查、聚合酶链式反应及细菌培养, 每种方法在临床上皆存在优点与局限性。目前, 对于幽门螺杆菌检测的“金标准”尚无统一论, 因此本文重点综述当前应用的幽门螺杆菌检测技术, 分析其优点和局限性, 并指明精准、快速且便捷的检测技术在流行病学调查等方面具备的优势, 旨在为临床和研究提供科学的参考依据。

**关键词:** 幽门螺杆菌; 感染; 检测

**基金项目:** 江苏省高校优势学科建设工程项目

Supported by the Priority Academic Program of Development Jiangsu High Education Institution

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this work.

\*Corresponding authors. Tel: +86-514-87979033; Fax: +86-514-87972218; E-mail: DUAN Qiangde, [dqd@yzu.edu.cn](mailto:dqd@yzu.edu.cn), ZHU Guoqiang, [yzgqzhu@yzu.edu.cn](mailto:yzgqzhu@yzu.edu.cn)

Received: 23 October 2021; Revised: 29 November 2021; Published online: 13 December 2021

# Research progress of detection technology of *Helicobacter pylori* and beyond

LI Yaqian<sup>1,2,3#</sup>, LIU Jiaqi<sup>1,2,3#</sup>, ZHU Xiaofang<sup>4</sup>, DUAN Qiangde<sup>1,2,3\*</sup>, ZHU Guoqiang<sup>1,2,3\*</sup>

1 College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

2 Important Disease Animal and Zoonosis Prevention and Control Collaborative Innovation Center of Jiangsu Province, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

3 Joint Laboratory of International Cooperation on Agriculture and Agricultural Product Safety of Ministry of Education and Joint Laboratory of International Cooperation on Prevention and Control Technology of Important Animal Diseases and Zoonoses of Jiangsu, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

4 Department of Dermatology, College of Clinical Medicine of Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

**Abstract:** *Helicobacter pylori* induces the incidence and development of many human gastrointestinal diseases via various virulence factors. Due to the lack of commercial vaccine and multi-drug resistance, it is difficult to eradicate this pathogen. Therefore, accurate detection technology is the key to prevent *H. pylori* infection and an important means of evaluating the treatment effect. The detection methods mainly include urea breath test, rapid urease test, stool antigen test, serological test, endoscopy, histopathologic examination, polymerase chain reaction, and bacteriological culture, each having specific strengths and weaknesses in clinical application. In the absence of an agreed-upon “gold standard” for *H. pylori* detection, we reviewed *H. pylori* detection techniques, analyzing their advantages and limitations. Particularly, we summarized the advantages of accurate, rapid, and convenient detection techniques in epidemiological investigation, aiming to provide a scientific reference for clinical application of and research on them.

**Keywords:** *Helicobacter pylori*; infection; detection

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是一种微需氧的革兰氏阴性菌,依靠尿素酶利用系统、靶向壁细胞降低胃酸等机制得以在胃内极低 pH 环境下生存<sup>[1]</sup>。1997 年,科学家们获得并公布了幽门螺杆菌的全基因组信息<sup>[2]</sup>,该基因组编码多种毒力因子,其中 *vacA* 和 *cagA* 基因编码的蛋白作为幽门螺杆菌的主要毒力因子,决定其致病性。细胞毒素相关蛋白 A (cytotoxin-associated gene A, CagA)被类似注射器的装置 IV 型分泌系统(type IV secretion system, T4SS)输送到宿主靶细胞<sup>[3]</sup>,与宿主细胞受体整合素  $\beta 1$  结合后进入上皮细胞内<sup>[4]</sup>,与多种蛋白发生相互作用并扰乱细胞正常的信号

传导通路,使上皮细胞发生一系列功能紊乱,导致细胞病变。空泡细胞毒素(VacA)为一种 88 kDa 的成熟分泌毒素,单体 VacA 分子与脂膜成分鞘磷脂结合,寡聚形成似花瓣状的六聚体阴离子选择性通道<sup>[1]</sup>,该通道是其发挥多种生物功能所必需的<sup>[5]</sup>,如空泡化宿主细胞、靶向线粒体诱导细胞凋亡<sup>[6]</sup>和抑制 T 细胞活化增殖<sup>[7]</sup>等,进而促进幽门螺杆菌定植于胃上皮细胞。然而,一旦幽门螺杆菌牢固地定植于胃上皮细胞, VacA 的毒性作用将破坏定植部位细胞,阻碍持久性定植,此时, CagA 保护胃上皮细胞免受 VacA 的攻击<sup>[8]</sup>,使细菌在宿主中达到最佳适应性。

幽门螺杆菌是导致慢性胃炎最常见的病因,其通过口-口、粪-口等途径传播,感染了全世界约 50%的人口<sup>[9]</sup>。由于临床大多数患者为无症状带菌状态,未得到应有的重视,从而可能导致胃癌等严重疾病的发生<sup>[10]</sup>,我国是幽门螺杆菌感染和胃癌双重高发国家<sup>[11]</sup>。1994年,世界卫生组织国际癌症研究机构(IARC)将幽门螺杆菌列为 I 类致癌物<sup>[12]</sup>,根除该菌也已被列为预防胃癌的主要策略<sup>[10]</sup>。精准的检测技术是根除幽门螺杆菌的基础,尽管传统检测技术众多,但都在敏感性与特异性等诸多方面存在不足,在这些检测技术指导下的用药方案也导致诸多问题,如国内外研究均表明,近年来幽门螺杆菌的耐药率明显增加,且有产生多重耐药的趋势<sup>[13-14]</sup>。因此,开发准确、简便的检测方法克服治疗过程中面临的问题迫在眉睫。

## 1 主要检测方法

21 世纪以来,幽门螺杆菌在西方高度工业化国家的流行率有所下降,但在发展中国家以及新兴工业化国家的流行率一直居高不下<sup>[8]</sup>。我国作为发展中国家,人口基数庞大,幽门螺杆菌自然感染率更高<sup>[15]</sup>,且由于传统家庭生活方式较为密切,易造成交叉感染。因此特异、敏感且便捷检测方式的开发对公共健康安全具有重要意义。幽门螺杆菌的检测技术不断更新,主要包括尿素呼气试验、快速尿素酶试验、粪便抗原检测、血清学检查、聚合酶链式反应、内镜检查、组织学检查及细菌培养。尽管检测手段众多,但目前对于“金标准方法”的说法不一,以下主要介绍各种检测技术在临床应用中的优点及存在的问题。

### 1.1 尿素呼气试验与快速尿素酶试验

幽门螺杆菌的尿素酶可将尿素分解为氨和二氧化碳,尿素呼气试验和快速尿素酶试验的

技术原理皆基于该特性。近年来,越来越多的医学指南建议使用尿素呼气试验作为诊断幽门螺杆菌的首要非侵入性检测手段,且大量研究将其作为“金标准”<sup>[16]</sup>。该方法无创、简便易操作,服用  $^{13}\text{C}$  或  $^{14}\text{C}$  的尿素胶囊后,经精密仪器测定呼出的  $^{13}\text{CO}_2$  或  $^{14}\text{CO}_2$  丰度以确定是否发生感染。目前应用于该技术的仪器主要包括同位素比率质谱仪(isotope ratio mass spectrometer, IRMS)、红外光谱仪和激光辅助分析仪,其中,IRMS 的检测精度最高。李莉<sup>[17]</sup>研究表明,  $^{13}\text{C}$  与  $^{14}\text{C}$  尿素呼气试验的敏感性、特异性和准确性均可达到 95%左右。 $^{14}\text{C}$  虽价格相对低廉,但考虑到其具有放射性,不适用于儿童和孕妇,因此  $^{13}\text{C}$  更适合在临床推广。由于缺乏 6 岁以下儿童使用尿素呼气试验的相关数据, Dondi 等<sup>[18]</sup>开创性地对 184 名 6 岁以下儿童进行研究,结果表明临界值影响检测的特异性,当临界值自 5‰增高至 8‰时,特异性由 95.5%增至 98.1%,因此,确定合适的临界值对于准确判定结果有重要意义,但如何明晰选择没有标准,且临界阈值对个体而言各不一致。

相较于尿素呼气试验,快速尿素酶试验则可能带来不适感,因为受试者需要接受胃内活检,若活检组织中含有幽门螺杆菌,则可分解尿素并产生氨气致使 pH 升高,根据专业试纸的颜色变化而判定结果。众多研究表明,快速尿素酶试验的准确性不及尿素呼气试验,但增加活检次数可提高该方法的敏感性<sup>[19-20]</sup>。2 种依赖尿素酶的诊断方法皆可能出现假阴性或假阳性,例如消化道出血时,血液中和胃内酸性环境,或因质子泵抑制剂抑制胃酸分泌,皆可导致尿素酶活性降低而出现假阴性<sup>[21]</sup>,胃内存在其他产尿素酶的细菌,如肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌等,则导致假阳性<sup>[22]</sup>。对幽门螺杆菌阳性患者进行干预治疗后,胃内幽门螺杆菌

菌定殖水平下降且分布不均, 此时若用快速尿素酶检测, 尤其在活检取材部位单一情况下, 则可能导致假阳性, 因此不建议用此手段评估干预治疗后疗效。

## 1.2 粪便抗原检测

幽门螺杆菌定殖于胃黏膜上皮细胞表面, 黏膜约 3 d 更新一次, 含幽门螺杆菌抗原的代谢产物和菌体崩解产物随上皮细胞脱离, 通过粪便排出, 使用酶免疫分析法和免疫色谱法进行定性或定量检测粪便中的抗原<sup>[16,23-24]</sup>, 如天然过氧化氢酶<sup>[25]</sup>。粪便抗原检测法为非侵入性检测, 且无需服用任何试剂, 在尿素呼气试验不适用的情况下, 粪便抗原检测可作为儿童检测幽门螺杆菌的良好替代方案<sup>[26]</sup>。研究人员先后开发出基于多克隆抗体和单克隆抗体的粪便抗原检测手段, 但一项荟萃分析显示<sup>[24]</sup>, 无论是用于早期诊断还是评估治疗后根除情况, 基于单克隆抗体的粪便检测抗原技术的敏感性、特异性及重复性均高于多克隆抗体。

关于粪便抗原检测方法的可靠性研究结果并不一致。林美梅<sup>[23]</sup>和王佐好等<sup>[27]</sup>分别对 231 例、340 例体检样本检测发现, 粪便抗原检测与 <sup>13</sup>C 尿素呼气试验具有较高的符合率和一致性, 可靠性较高, 而 Alzoubi 等<sup>[28]</sup>对 30 例样本进行研究, 结果表明, 在诊断方面, <sup>13</sup>C 尿素呼气试验比粪便抗原检测更敏感、准确, 在评估根除治疗的成功率方面, 两者相当, 但就费用和设备考虑, 粪便抗原检测更适合进行大规模流行病学调查。鉴于我国情况, 《第五次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告》认为尿素呼气试验是评估干预治疗疗效的最佳手段, 对于该手段依从性较差的人群可以辅助粪便抗原检测。利用尿素呼气试验和粪便抗原检测进行干预治疗后评估, 结果表明, 幽门螺杆菌根除率高达 75%–100%<sup>[29]</sup>, 但由于此 2 种方法必须在胃内

幽门螺杆菌密度达到一定水平的情况下才能检出阳性, 而药物治疗可降低菌密度, 因此易出现假阴性, 造成干预治疗后的评估结果不准确。粪便抗原检测的准确性还受其他因素干扰, 如粪便稀薄导致假阴性, 与其他细菌存在抗原交叉造成假阳性, 样品保存条件与运输时间以及临界值对诊断的准确性也存在影响<sup>[30]</sup>。

## 1.3 血清学检测

幽门螺杆菌表面存在多种抗原, 如 CagA、VacA 和 UreaA/B 等, 抗原刺激机体产生相应抗体, 在此基础上进行血清学检测, 主要针对 IgG 抗体<sup>[22]</sup>。目前, 幽门螺杆菌的血清学检测方法主要包括酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、免疫印迹技术和酶免疫分析法等<sup>[31]</sup>, 其中 ELISA 应用最为广泛。血清学方法的准确性受到抗原基因型地区间差异的影响, 例如 CagA 的基因型分为东方型和西方型, 两者产生的抗体水平不同, 但目前, 大多数商用的幽门螺杆菌 CagA 的 ELISA 试剂盒基于西方型 CagA, 不适合东方国家, 因此 Doohan 团队研制了针对东方型 CagA 的 ELISA 试剂盒, 经验证, 此法提高了东亚地区幽门螺杆菌检测的敏感性、特异性及准确性<sup>[32]</sup>。一般来说, 与成人相比, 血清学检测在儿童中的敏感性低, 对 42 项针对儿童样本的研究进行荟萃分析<sup>[33]</sup>, 结果显示, 血清 IgG 抗体检测的特异性为 92.4%, 敏感性仅为 79.2%, 这可能是由于儿童对幽门螺杆菌抗原的免疫应答产生较晚导致的<sup>[31]</sup>, IgG 抗体滴度随着年龄增加而上升, 因此确定 ELISA 法的检测界限值很关键, 因而有学者认为对儿童和成人在抗体诊断中应采用不同标准, 以提高诊断的准确性。血清学检测所针对的样本不仅为血清, 还涉及尿液和唾液, 一项荟萃分析结果显示, 基于尿液中抗幽门螺杆菌抗体的血清学诊断方法的整

体灵敏度为 83%，特异度为 89%，可作为诊断感染的良好指标<sup>[34]</sup>。

血清学检查不受消化道出血、抗生素、质子抑制剂和铋剂等因素的干扰，在人群筛检和流行病学调查中发挥作用<sup>[35]</sup>。此外，由于幽门螺杆菌 IgG 抗体和胃蛋白酶原(pepsinogen, PG)均与胃癌存在相关性，在胃癌发展过程中 PG I、PG II 和 PG I /PG II 值均降低，因此将幽门螺杆菌 IgG 抗体与 PG 的联合检测作为胃癌高发人群的早期筛查指标，可提高胃癌早期筛查的敏感度<sup>[36]</sup>，此联合检测法具有无创筛查胃癌的优势。但血清学试验不适用于幽门螺杆菌感染的早期诊断，亦不用来评估根除治疗是否成功，因为人体感染幽门螺杆菌数周后血中才会出现特异性抗体，若早期抗体未达到检测阈值，则出现假阴性结果，而根除幽门螺杆菌后血清中抗体能够维持 6 个月以上，易造成假阳性，因此《第五次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告》中指出<sup>[37]</sup>，血清学检查不能用于干预治疗后的复查。上述血清学方法同尿素呼气试验和粪便抗原检测法具有相同的局限性，确定合适的临界值对于准确判断结果有重要意义。

#### 1.4 聚合酶链式反应(PCR)

1990 年，Hoshina 等<sup>[38]</sup>首次应用 PCR 技术检测幽门螺杆菌。该方法是利用幽门螺杆菌特定基因进行检测，如 *cagA*、*vacA*、*ureA*、*ureB* 和 *ureC* 等<sup>[39]</sup>。用于幽门螺杆菌检测的 PCR 技术包括逆转录 PCR (reverse transcription-PCR, RT-PCR)、实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR)、巢式 PCR (nested PCR, nPCR)、多重 PCR (multiple PCR, mPCR) 及数字 PCR (digital PCR, dPCR) 等。与其他常规检测方法相比，这种分子检测技术具有更高的灵敏度和特异性<sup>[40-41]</sup>，达 95% 以上，尤其针对有出血症状的患者。检测样本包括胃活检组

织、粪便、血液、牙菌斑和唾液环境样品等，但不同样品的检测效果不同，有研究者认为新鲜组织样本为最佳检测标本<sup>[22]</sup>，特异性及敏感性可达 100%<sup>[42]</sup>。口腔是幽门螺杆菌的第二储库<sup>[43]</sup>，唾液和牙菌斑是常用的口腔 PCR 检测标本，但检出率差异较大，且唾液样品的幽门螺杆菌检出率低于牙菌斑样品，这可能归因于研究方法、人群和引物的差异<sup>[44]</sup>。Ogaya 等<sup>[45]</sup>研究人员基于 48 株幽门螺杆菌全基因组的高度保守序列设计了特异性引物，开发出一种新型 PCR 法，提高了口腔 PCR 诊断的准确性。

在流行病学研究方面，应用该技术对伊朗克尔曼沙地区饮水进行检测，发现饮用水中存在高水平的幽门螺杆菌，为幽门螺杆菌通过饮用水传播提供了更多依据<sup>[46]</sup>。在评估治疗效果方面，Patel 等<sup>[29]</sup>对 25 位患者进行跟踪研究，经四周治疗后，利用巢氏 PCR 法检出患者阳性率仍高达 92%，远达不到其他报道中的高根除率，另外该研究对经治疗后仍表现幽门螺杆菌阳性患者进一步分析，结果表明，大多数阳性患者为干预治疗失败，而非感染新菌株所致，此研究为改良治疗方案提供有效依据。此外，PCR 检测方法快速、经济且自动化程度高，与血清学检测方法相同，不受质子抑制剂、铋剂和抗生素等药物的影响，且能对特定位点的耐药基因的突变进行检测，在幽门螺杆菌耐药情况愈发严重的形势下，具有明显优势，但由于死亡菌体 DNA 片段的的存在或与某些细菌存在共同基因，可能造成假阳性。

#### 1.5 细菌培养

细菌培养的特异性为 100%，因此一般被认为是检测幽门螺杆菌感染的“金标准”，但该方法的敏感性较低，处于 85%–95% 之间。有研究认为，对受试者可先进行快速尿素酶检测，怀疑为假阴性者，可用细菌培养法进一步确诊<sup>[47]</sup>。

幽门螺杆菌的培养环境十分严格,需要专门的生长介质和环境,于微需氧(5% O<sub>2</sub>、10% CO<sub>2</sub>和 85% N<sub>2</sub>)条件下,在哥伦比亚琼脂、布氏琼脂或牛脑心浸液琼脂等固体培养基上 37 °C 培养 3–5 d。若标本质量差、运输延迟、暴露于有氧或温度不适宜的环境则影响细菌生存,降低诊断的准确性。Gong 等<sup>[48]</sup>对两年内接受活检的 66 452 名患者的样品进行分组研究,结果显示,运输时间为 24 h 的阳性培养率为 32.84%,而 48 h 运输组的阳性培养率明显下降,仅为 26.25%。除外界环境,宿主因素如胃炎、细菌载量低、出血、饮酒、质子抑制剂和抗生素等均对培养成功率产生影响,一般建议受试者在接受检测前 2–4 周避免服用上述药物。幽门螺杆菌的分离培养对操作人员的水平要求较高,经验欠缺、操作不规范等均可造成培养失败。

### 1.6 内窥镜检查

内窥镜是常规取样仪器,样品可用于进一步诊断,如快速尿素酶试验、细菌培养和聚合酶链式反应等。单一的内窥镜检查也可用于幽门螺杆菌的检测,镜下观察到结节状胃炎提示幽门螺杆菌感染<sup>[22]</sup>,黏膜萎缩、肠化生、皱褶扩大和结节是胃癌的危险信号<sup>[49]</sup>。除传统内窥镜以外,酚红显色内窥镜利用幽门螺杆菌尿素酶活性,被应用于幽门螺杆菌的检测,此方法与快速尿素酶试验原理相同,虽避免了样品保存条件等因素对检测结果的影响,但敏感性和特异性较低<sup>[50]</sup>;高分辨率放大内镜是优于传统内窥镜检查的有效手段,可以直接观察胃肠道黏膜的表面微结构,识别黏膜萎缩和肠化生等特殊组织病理学特征,结合靛蓝胭脂红染色后,检测幽门螺杆菌胃炎的敏感度和特异度均得到提升<sup>[51]</sup>;窄带成像技术通过观察胃黏膜表面淡蓝色波纹诊断胃肠化生<sup>[52]</sup>;共聚焦激光内窥镜

技术可在内镜检查过程中进行胃黏膜分析和组织学检查<sup>[53]</sup>,白色亮斑、中性粒细胞浸润和隐窝脓肿是幽门螺杆菌感染的标志;亚甲蓝染色内镜有助于检测胃癌前病变,即肠上皮化生和异型增生<sup>[51]</sup>。内窥镜检查的局限性在于费用昂贵、产生不适感,且有并发症风险,如腹胀腹痛、呕吐口臭和烧心等,诊断结果对内镜医生经验及能力的依赖性较高,一般不单独作为确诊手段。

### 1.7 组织学检查

组织学检查是通过特殊染色技术对胃活检进行分析,通常被认为是直接检测幽门螺杆菌感染的“金标准”。由于幽门螺杆菌在整个胃中的分布和密度不同,为提高组织学检测的准确性,通常从胃窦和胃体两个部位获取标本,标本数量不少于两个且需进行多次活检。Van Ijzendoorn 等<sup>[54]</sup>收集两年期间接受检查的 620 例患者活检标本,研究结果表明,与单独胃窦活检相比,胃窦和胃体同时参与活检可使幽门螺杆菌的阳性检出率提高 10%。目前检测幽门螺杆菌常用的组织切片染色镜检法主要包括常规 HE 染色、吉姆萨染色和免疫组化染色等。临床上,常规 HE 染色检测足以诊断幽门螺杆菌感染,若由于存在特征性慢性胃炎,单纯的 HE 染色无法检测幽门螺杆菌时,应考虑辅助染色进行诊断,此时应首选免疫组化染色,其敏感性和特异性最高<sup>[55]</sup>。对于不同临床特征,组织学检查的敏感性不同,检测非溃疡性消化不良患者时,敏感度表现最佳,而消化性溃疡患者更适合血清学方法<sup>[56]</sup>。组织学检查亦受到胃活检的部位、数量、大小和染色方法,操作人员经验水平、抗生素及质子泵抑制剂等影响。范建华等<sup>[57]</sup>报道联合快速尿素酶共同作为检测手段可提高准确率。

## 2 小结与展望

幽门螺杆菌作为人类胃肠疾病的病原菌,还与神经系统、心血管、肝脏、代谢及过敏性疾病相关<sup>[58]</sup>,2015年的流行病学调查显示,全球约44亿人感染幽门螺杆菌,对人类健康造成严重威胁。考虑到目前幽门螺杆菌多重耐药趋势愈发严重,含铋四联疗法代替传统的三联疗法作为主要治疗方案,但临床症状的消退并不代表成功根除幽门螺杆菌,精准的检测技术是检验治疗效果的关键。然而,目前“金标准方法”暂无定论,在评估传统或新开发的检测方法时,拟定的“金标准”不同,使得对同种方法的评估结果相差甚大。因此,无论是流行病学调查,评估治疗效果,还是评估检测技术的优劣,精准的检测技术皆起关键性作用,而非侵入性检测手段以其操作简单、无创的优势,在幽门螺旋杆菌感染的诊断中日益重要。

预防幽门螺杆菌感染也要注重着眼于其他方面。由于幽门螺杆菌地区间流行率的差异反映了当地城市化水平、社会经济地位、卫生设施、饮用水与食物洁净状况等,因此,提高社会经济水平、改善人民生活条件是预防和控制幽门螺杆菌感染的重要手段。关于幽门螺杆菌疫苗的研究并不理想,但 Yang 等<sup>[59]</sup>利用霍乱毒素 B 亚单位(CTB)将幽门螺杆菌脲酶 B 亚单位的 4 个抗原片段与 I 亚单位的 2 个抗原片段连接,构建了 CTB-UreI-UreB 多表位疫苗,跟踪研究显示该疫苗对幽门螺杆菌的感染具有保护作用,此研究说明疫苗方案具有可行性。

本课题组正在开发的幽门螺杆菌检测技术为非侵入性手段,与传统的血清学技术(如 ELISA、免疫层析技术等)相比,额外设置了基于样品的对照系统,即与检测系统相比,对照系统仅缺少 *H. pylori* 诊断抗原。进行检测时,

每份样品与对照系统反应时皆表现为阴性,与检测系统的 *H. pylori* 诊断抗原反应时,可判断样品为阳性或阴性,从而消除了传统检测手段中临界值对结果的影响,使其排除非特异性反应、假阳性及假阴性反应。另外,大量研究表明<sup>[46,60]</sup>,幽门螺杆菌存在于水、蔬菜及动物性产品中,同时也有研究人员<sup>[61]</sup>在绵羊等动物的胃中发现并成功分离出幽门螺杆菌,该重大发现提示在其他动物中也可能存在幽门螺杆菌。针对此假设,本课题组利用开发的检测技术正逐步开展相关研究。

综上所述,未来我们应开展更多研究以改进和完善现有的检测技术以及开发基于特异性敏感性和便捷性的新技术,为深入研究幽门螺杆菌的流行病学,有效预防和根除幽门螺杆菌奠定坚实基础。

## 参考文献

- [1] Boquet P, Ricci V. Intoxication strategy of *Helicobacter pylori* VacA toxin. *Trends in Microbiology*, 2012, 20(4): 165–174.
- [2] 涂宏飞, 费素娟. 幽门螺杆菌 CagA 及 VacA 致病机制的研究进展. *中国中西医结合消化杂志*, 2019, 27(5): 399–402.  
Tu HF, Fei SJ. Research progress on pathogenesis of *Helicobacter pylori* CagA and VacA. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine on Digestion*, 2019, 27(5): 399–402. (in Chinese)
- [3] Knorr J, Ricci V, Hatakeyama M, Backert S. Classification of *Helicobacter pylori* virulence factors: is CagA a toxin or not? *Trends in Microbiology*, 2019, 27(9): 731–738.
- [4] Kaplan-Türköz B, Jiménez-Soto LF, Dian C, Ertl C, Remaut H, Louche A, Tosi T, Haas R, Terradot L. Structural insights into *Helicobacter pylori* oncoprotein CagA interaction with  $\beta 1$  integrin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(36): 14640–14645.
- [5] Szabò I, Brutsche S, Tombola F, Moschioni M, Satin B, Telford JL, Rappuoli R, Montecucco C, Papini E,

- Zoratti M. Formation of anion-selective channels in the cell plasma membrane by the toxin VacA of *Helicobacter pylori* is required for its biological activity. *The EMBO Journal*, 1999, 18(20): 5517–5527.
- [6] Galmiche A, Rassow J, Doye A, Cagnol S, Chambard JC, Contamin S, De Thillot V, Just I, Ricci V, Solcia E, Van Obberghen E, Boquet P. The N-terminal 34 kDa fragment of *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin targets mitochondria and induces cytochrome c release. *The EMBO Journal*, 2000, 19(23): 6361–6370.
- [7] Torres VJ, Van Compernelle SE, Sundrud MS, Unutmaz D, Cover TL. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin inhibits activation-induced proliferation of human T and B lymphocyte subsets. *Journal of Immunology*, 2007, 179(8): 5433–5440.
- [8] Oldani A, Cormont M, Hofman V, Chiozzi V, Oregioni O, Canonici A, Sciullo A, Sommi P, Fabbri A, Ricci V, Boquet P. *Helicobacter pylori* counteracts the apoptotic action of its VacA toxin by injecting the CagA protein into gastric epithelial cells. *PLoS Pathogens*, 2009, 5(10): e1000603.
- [9] 袁世梅, 杨伟, 魏进武, 廖俐雅, 余登琼, 左崇宇, 余晓辉, 宋仁, 熊中政. 不同诊断方法对消化内科幽门螺杆菌感染的诊断价值. *检验医学与临床*, 2021, 18(13): 1948–1951.
- Yuan SM, Yang W, Wei JW, Liao LY, Yu DQ, Zuo CY, Yu XH, Song R, Xiong ZZ. Diagnostic value of different diagnostic methods for *Helicobacter pylori* infection in gastroenterology department. *Laboratory Medicine and Clinic*, 2021, 18(13): 1948–1951. (in Chinese)
- [10] Sugano K, Tack J, Kuipers EJ, Graham DY, El-Omar EM, Miura S, Haruma K, Asaka M, Uemura N, Malfertheiner P. Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis. *Gut*, 2015, 64(9): 1353–1367.
- [11] 许玉春. 慢性萎缩性胃炎患者幽门螺杆菌根除治疗的临床意义. 山东大学硕士学位论文, 2020.
- [12] Deng L, He XY, Tang B, Xiang Y, Yue JJ. An improved quantitative real-time polymerase chain reaction technology for *Helicobacter pylori* detection in stomach tissue and its application value in clinical precision testing. *BMC Biotechnology*, 2020, 20(1): 33.
- [13] Saracino IM, Zullo A, Holton J, Castelli V, Fiorini G, Zaccaro C, Ridola L, Ricci C, Gatta L, Vaira D. High prevalence of primary antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* isolates in Italy. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*, 2012, 21(4): 363–365.
- [14] Zhang YX, Zhou LY, Song ZQ, Zhang JZ, He LH, Ding Y. Primary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains isolated from patients with dyspeptic symptoms in Beijing: a prospective serial study. *World Journal of Gastroenterology*, 2015, 21(9): 2786–2792.
- [15] 姚敏, 李艳梅. 人群中幽门螺杆菌感染现状及危险因素分析. *世界最新医学信息文摘*, 2018, 18(55): 85–86.
- Yao M, Li YM. Analysis of *Helicobacter pylori* infection status and risk factors in the human population. *World Latest Medicine Information*, 2018, 18(55): 85–86. (in Chinese)
- [16] Kouitcheu Mabeku LB, Bello Epesse M, Fotsing S, Kamgang R, Tchidjo M. Stool antigen testing, a reliable noninvasive method of assessment of *Helicobacter pylori* infection among patients with gastro-duodenal disorders in Cameroon. *Digestive Diseases and Sciences*, 2021, 66(2): 511–520.
- [17] 李莉. 幽门螺杆菌应用  $^{13}\text{C}$  尿素呼气试验与  $^{14}\text{C}$  尿素呼气试验检测的比较分析. *中外医学研究*, 2017, 15(36): 92–94.
- Li L. Comparative analysis of  $^{13}\text{C}$  urea breath test and  $^{14}\text{C}$  urea breath test for detection of *Helicobacter pylori*. *Chinese and Foreign Medical Research*, 2017, 15(36): 92–94. (in Chinese)
- [18] Dondi E, Rapa A, Boldorini R, Fonio P, Zanetta S, Oderda G. High accuracy of noninvasive tests to diagnose *Helicobacter pylori* infection in very young children. *The Journal of Pediatrics*, 2006, 149(6): 817–821.
- [19] 周芳菲. 幽门螺杆菌测试仪  $^{14}\text{C}$  尿素呼气试验在幽门螺杆菌感染检测中的应用价值. *中国实用医药*, 2021, 16(23): 53–55.
- Zhou FF. Application value of  $^{14}\text{C}$  urea breath test in the detection of *Helicobacter pylori*. *China Practical Medicine*, 2021, 16(23): 53–55. (in Chinese)
- [20] Lee TH, Lin CC, Chung CS, Lin CK, Liang CC, Tsai KC. Increasing biopsy number and sampling from gastric body improve the sensitivity of rapid urease test in patients with peptic ulcer bleeding. *Digestive Diseases and Sciences*, 2015, 60(2): 454–457.
- [21] 张少聪, 陈卫刚, 王凯莉, 陈凯丽, 郑勇.  $^{14}\text{C}$ -尿素呼气试验检测值与幽门螺杆菌感染密度的关系. *吉林医学*, 2021, 42(2): 368–371.
- Zhang SC, Chen WG, Wang KL, Chen KL, Zheng Y. Relationship between C-14 breath test value and *Helicobacter pylori* infection density. *Jilin Medical Journal*, 2021, 42(2): 368–371. (in Chinese)



- [22] 曾妙, 杨三三, 李雪诺, 陈安海. 幽门螺旋杆菌的检测方法研究现状. 海南医学, 2020, 31(6): 784–788.  
Zeng M, Yang SS, Li XN, Chen AH. Advances in research of *Helicobacter pylori* detection methods. *Hainan Medical Journal*, 2020, 31(6): 784–788. (in Chinese)
- [23] 林美梅. 幽门螺杆菌粪便抗原检测与尿素呼气试验对比研究. 中国卫生标准管理, 2018, 9(18): 119–122.  
Lin MM. Comparative study of *Helicobacter pylori* stool antigen test card and urea breath test. *China Health Standard Management*, 2018, 9(18): 119–122. (in Chinese)
- [24] Gisbert JP, de la Morena F, Abaira V. Accuracy of monoclonal stool antigen test for the diagnosis of *H. pylori* infection: a systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Gastroenterology*, 2006, 101(8): 1921–1930.
- [25] Okuda M, Osaki T, Kikuchi S, Ueda J, Lin YS, Yonezawa H, Maekawa K, Hojo F, Kamiya S, Fukuda Y. Evaluation of a stool antigen test using a MAb for native catalase for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children and adults. *Journal of medical Microbiology*, 2014, 63(Pt12): 1621–1625.
- [26] 何艳明, 梁卓夫, 姚淑雯, 刘云锋, 李彩金, 周珍文. 3 种方法对儿童幽门螺杆菌感染检测的比较. 国际检验医学杂志, 2016, 37(2): 145–146.  
He YM, Liang ZF, Yao SW, Liu YF, Li CJ, Zhou ZW. Comparison of three methods for the detection of *Helicobacter pylori* infection in children. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2016, 37(2): 145–146. (in Chinese)
- [27] 王佐好, 谢立群, 刘彩红, 赵红艳. 粪便抗原检测临床诊断幽门螺杆菌感染的可靠性研究. 胃肠病学, 2015, 20(2): 78–80.  
Wang ZY, Xie LQ, Liu CH, Zhao HY. Reliability of stool antigen test for clinical diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Chinese Journal of Gastroenterology*, 2015, 20(2): 78–80. (in Chinese)
- [28] Alzoubi H, Al-Mnayyis A, Al rfoa I, Aqel A, Abu-Lubad M, Hamdan O, Jaber K. The use of <sup>13</sup>C-urea breath test for non-invasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in comparison to endoscopy and stool antigen test. *Diagnostics*, 2020, 10(7): 448.
- [29] Patel SK, Mishra GN, Pratap CB, Jain AK, Nath G. *Helicobacter pylori* is not eradicated after triple therapy: a nested PCR based study. *BioMed Research International*, 2014, 2014: 483136.
- [30] 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. 中国卫生标准管理, 2019, 10(24): 103–106.  
Lin MM. Comparative study of *Helicobacter pylori* stool antigen test card and serum HP antibody colloidal gold test. *China Health Standard Management*, 2019, 10(24): 103–106. (in Chinese)
- [31] 王小众, 李丹. 幽门螺杆菌的血清学诊断. 世界华人消化杂志, 2000, 8(5): 550–551.  
Wang XZ, Li D. Serological diagnosis of *Helicobacter pylori*. *World Chinese Journal of Digestology*, 2000, 8(5): 550–551. (in Chinese)
- [32] Doohan D, Miftahussurur M, Matsuo Y, Kido Y, Akada J, Matsuhisa T, Yee TT, Htet K, Aftab H, Vilaichone RK, Mahachai V, Ratanachu-Ek T, Tshering L, Waskito LA, Fauzia KA, Uchida T, Syam AF, Rezkitha YAA, Yamaoka Y. Characterization of a novel *Helicobacter pylori* East Asian-type CagA ELISA for detecting patients infected with various *cagA* genotypes. *Medical Microbiology and Immunology*, 2020, 209(1): 29–40.
- [33] Leal YA, Flores LL, García-Cortés LB, Cedillo-Rivera R, Torres J. Antibody-based detection tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children: a meta-analysis. *PLoS ONE*, 2008, 3(11): e3751.
- [34] Gong YH, Li QP, Yuan Y. Accuracy of testing for anti-*Helicobacter pylori* IgG in urine for *H. pylori* infection diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*, 2017, 7(4): e013248.
- [35] 王龙, 曹杰, 辛毅. 幽门螺杆菌抗体血清学检测的临床应用价值. 国际消化病杂志, 2018, 38(6): 390–392.  
Wang L, Cao J, Xin Y. Clinical value of serological detection of *Helicobacter pylori* antibody. *International Journal of Digestive Diseases*, 2018, 38(6): 390–392. (in Chinese)
- [36] 谢庆, 陈卫刚, 齐翠花, 刘芳, 乔琨. 胃蛋白酶原联合幽门螺旋杆菌 IgG 抗体对胃癌早期诊断的价值. 胃肠病学和肝病杂志, 2016, 25(11): 1244–1247.  
Xie Q, Chen WG, Qi CH, Liu F, Qiao K. Value of serum pepsinogen and anti-*H. pylori* IgG in early diagnosis of gastric cancer. *Chinese Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2016, 25(11): 1244–1247. (in Chinese)
- [37] 刘文忠, 谢勇, 陆红, 成虹, 曾志荣, 周丽雅, 陈焯, 王江滨, 杜奕奇, 吕农华. 第五次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告. 胃肠病学, 2017, 22(6): 346–360.  
Liu WZ, Xie Y, Lu H, Cheng H, Zeng ZR, Zhou LY,

- Chen Y, Wang JB, Du YQ, Lv NH. Fifth Chinese national consensus report on the management of *Helicobacter pylori* infection. *Chinese Journal of Gastroenterology*, 2017, 22(6): 346–360. (in Chinese)
- [38] Hoshina S, Kahn SM, Jian W, Green PHR, 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. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 1990, 13(6): 473–479.
- [39] Roth DE, Velapatiño B, Gilman RH, Su WW, Berg DE, Cabrera L, Garcia E. A comparison of a string test-PCR assay and a stool antigen immunoassay (HpSA) for *Helicobacter pylori* screening in peru. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2001, 95(4): 398–399.
- [40] Gill P, Alvandi AH, Abdul-Tehrani H, Sadeghizadeh M. Colorimetric detection of *Helicobacter pylori* DNA using isothermal helicase-dependent amplification and gold nanoparticle probes. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2008, 62(2): 119–124.
- [41] Saez J, Belda S, Santibáñez M, Rodríguez JC, Sola-Vera J, Galiana A, Ruiz-García M, Brotons A, López-Girona E, Girona E, Sillero C, Royo G. Real-time PCR for diagnosing *Helicobacter pylori* infection in patients with upper gastrointestinal bleeding: comparison with other classical diagnostic methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012, 50(10): 3233–3237.
- [42] Li CF, Ha TZ, Ferguson DA, Chi DS, Zhao RG, Patel NR, Krishnaswamy G, Thomas E. A newly developed PCR assay of *H. pylori* in gastric biopsy, saliva, and feces. *Digestive Diseases and Sciences*, 1996, 41(11): 2142–2149.
- [43] 迟文静, 刘涛, 刘宜昕, 赵虎, 张艳梅. 幽门螺杆菌无创性分子生物学检测方法研究进展. *检验医学*, 2021, 36(8): 880–885.  
Chi WJ, Liu T, Liu YX, Zhao H, Zhang YM. Research progress of non-invasive molecular biological methods for detecting *Helicobacter pylori*. *Laboratory Medicine*, 2021, 36(8): 880–885. (in Chinese)
- [44] Anand PS, Kamath KP, Anil S. Role of dental plaque, saliva and periodontal disease in *Helicobacter pylori* infection. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20(19): 5639–5653.
- [45] Ogaya Y, Nomura R, Watanabe Y, Nakano K. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in inflamed dental pulp specimens from Japanese children and adolescents. *Journal of Medical Microbiology*, 2015, 64(Pt 1): 117–123.
- [46] Amirhooshang A, Ramin A, Ehsan A, Mansour R, Shahram B. High frequency of *Helicobacter pylori* DNA in drinking water in Kermanshah, Iran, during June–November 2012. *Journal of Water and Health*, 2014, 12(3): 504–512.
- [47] 郝颖. 幽门螺杆菌检测采用细菌培养与尿素酶试验的临床分析. *临床医学研究与实践*, 2016, 1(15): 53.  
Xi Y. Clinical analysis of *Helicobacter pylori* detection by bacterial culture and urease test. *Clinical Research and Practice*, 2016, 1(15): 53. (in Chinese)
- [48] Gong YN, Li YM, Yang NM, Li HZ, Guo F, Lin L, Wang QY, Zhang JK, Ji ZZ, Mao JB, Mao JL, Shi ZC, Tang WH, Zhu XJ, Shao W, Zhang XF, Wang XH, Tong YF, Jiang MZ, Chen GL, Wang ZY, Tu HM, Jiang GF, Wu JS, Chen XP, Ding QL, Ouyang H, Jin FZ, Xu YL, Zhang JZ. Centralized isolation of *Helicobacter pylori* from multiple centers and transport condition influences. *World Journal of Gastroenterology*, 2015, 21(3): 944–952.
- [49] Toyoshima O, Nishizawa T, Koike K. Endoscopic Kyoto classification of *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer risk diagnosis. *World Journal of Gastroenterology*, 2020, 26(5): 466–477.
- [50] Hernández-Garcés HR, Castellanos-González VV, González-Fabián L, Infante-Velázquez M, Peña K, Andrain-Sierra Y. Chromoendoscopy with red phenol in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Revista Española De Enfermedades Digestivas*, 2012, 104(1): 4–9.
- [51] Gonen C, Simsek I, Sarioglu S, Akpinar H. Comparison of high resolution magnifying endoscopy and standard videoendoscopy for the diagnosis of *Helicobacter pylori* gastritis in routine clinical practice: a prospective study. *Helicobacter*, 2009, 14(1): 12–21.
- [52] Uedo N, Ishihara R, Iishi H, Yamamoto S, Yamamoto S, Yamada T, Imanaka K, Takeuchi Y, Higashino K, Ishiguro S, Tatsuta M. A new method of diagnosing gastric intestinal metaplasia: narrow-band imaging with magnifying endoscopy. *Endoscopy*, 2006, 38(8): 819–824.
- [53] Hoffman A, Goetz M, Vieth M, Galle PR, Neurath MF, Kiesslich R. Confocal laser endomicroscopy: technical status and current indications. *Endoscopy*, 2006, 38(12): 1275–1283.
- [54] Van Ijzendoorn MC, Laheij RJF, De Boer WA, Jansen

- JBMJ. The importance of corpus biopsies for the determination of *Helicobacter pylori* infection. *The Netherlands Journal of Medicine*, 2005, 63(4): 141–145.
- [55] Hartman DJ, Owens SR. Are routine ancillary stains required to diagnose *Helicobacter* infection in gastric biopsy specimens? An institutional quality assurance review. *American Journal of Clinical Pathology*, 2012, 137(2): 255–260.
- [56] Zúñiga-Noriega JR, Bosques-Padilla FJ, Pérez-Pérez GI, Tijerina-Menchaca R, Flores-Gutiérrez JP, Maldonado Garza HJ, Garza-González E. Diagnostic utility of invasive tests and serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in different clinical presentations. *Archives of Medical Research*, 2006, 37(1): 123–128.
- [57] 范建华, 吴瑾. 快速尿素酶和组织病理学检测幽门螺杆菌的价值分析. *药物生物技术*, 2021, 28(1): 26–29.  
Fan JH, Wu J. Value analysis on rapid urease test and histopathological detection of *Helicobacter pylori*. *Pharmaceutical Biotechnology*, 2021, 28(1): 26–29. (in Chinese)
- [58] Gravina AG, Zagari RM, De Musis C, Romano L, Loguercio C, Romano M. *Helicobacter pylori* and extragastric diseases: a review. *World Journal of Gastroenterology*, 2018, 24(29): 3204–3221.
- [59] Yang J, Dai LX, Pan X, Wang HR, Li B, Zhu J, Li MY, Shi XL, Wang BN. Protection against *Helicobacter pylori* infection in BALB/c mice by oral administration of multi-epitope vaccine of CTB-UreI-UreB. *Pathogens and Disease*, 2015, 73(5): DOI: 10.1093/femspd/ftv026.
- [60] Quaglia NC, Dambrosio A, Normanno G, Parisi A, Patrono R, Ranieri G, Rella A, Celano GV. High occurrence of *Helicobacter pylori* in raw goat, sheep and cow milk inferred by *glmM* gene: a risk of food-borne infection? *International Journal of Food Microbiology*, 2008, 124(1): 43–47.
- [61] Dore MP, Sepulveda AR, El-Zimaity H, Yamaoka Y, Osato MS, Mototsugu K, Nieddu AM, Realdi G, Graham DY. Isolation of *Helicobacter pylori* from sheep—implications for transmission to humans. *The American Journal of Gastroenterology*, 2001, 96(5): 1396–1401.

(本文责编 张晓丽)