

agn Pathol, 2017, 34(2):153-159.

[6] ROBERTS L R, SIRLIN C B, ZAIEM F, et al. Imaging for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: a systematic review and Meta-analysis [J]. Hepatology, 2018, 67(1): 401-421.

[7] HUANG S, JIANG F, WANG Y, et al. Diagnostic performance of tumor markers AFP and PIVKA-II in Chinese hepatocellular carcinoma patients [J]. Tumour Biol, 2017, 39(6):1010428317705763.

[8] JIANG X, GUO D, LI W, et al. Combination Twist1 and CA15-3 in axillary lymph nodes for breast cancer prognosis [J]. Mol Med Rep, 2017, 15(3):1123-1134.

[9] CHOI J W, MOON B I, LEE J W, et al. Use of CA15-3 for screening breast cancer: an antibody-lectin sandwich assay for detecting glycosylation of CA15-3 in sera [J]. Oncol Rep, 2018, 40(1):145-154.

[10] ALESKI M, KOBILAY M, SCHROEDER L, et al. Improved sensitivity for detection of breast cancer by combination of miR-34a and tumor markers CA 15-3 or CEA [J]. Oncotarget, 2018, 9(32):22523-22536.

[11] FU S, YUN Z Y, CUI M M, et al. Cancer antigen 15-3, platelet distribution width, and fibrinogen in combination to distinguish breast cancer from benign breast disease in non-conclusive mammography patients [J]. Oncotarget, 2017, 8(40):67829-67836.

[12] LI Y, KONG R, CHEN H, et al. Overexpression of KLF5 is associated with poor survival and G1/S progression in pancreatic cancer [J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(14):5035-5057.

[13] LIANG H, SUN H, YANG J, et al. miR-145-5p reduces proliferation and migration of hepatocellular carcinoma by targeting KLF5 [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(6):8332-8338.

[14] MA Y, WANG Q, LIU F, et al. KLF5 promotes the tumorigenesis and metastatic potential of thyroid cancer cells through the NF-κB signaling pathway [J]. Oncol Rep, 2018, 40(5):2608-2618.

(收稿日期:2020-09-22 修回日期:2021-02-22)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.13.034

不同诊断方法对消化内科幽门螺杆菌感染的诊断价值

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[△]
重庆市垫江县人民医院检验科, 重庆 408300

摘要:目的 探究不同诊断方法对幽门螺杆菌感染患者的诊断价值以优化临床检测方法。方法 回顾性选择重庆市垫江县人民医院 2018 年 9 月至 2020 年 5 月收治的临床表现为上消化道症状患者 197 例。采用内镜、¹⁴C 尿素呼气试验、血清学、细菌培养及实时荧光定量 PCR 检测幽门螺杆菌感染情况, 并通过受试者工作特征(ROC)曲线分析各方法检验效能。结果 细菌培养结果显示, 幽门螺杆菌感染阳性受试者 129 例, 阴性 68 例, 阳性率为 65.48%; ROC 曲线分析显示, 内镜检查、¹⁴C 尿素呼气试验、血清学检查、实时荧光定量 PCR 的曲线下面积依次为 0.756、0.838、0.939 与 0.985; 灵敏度依次为 72.87%、88.37%、90.69%、94.57%, 特异度依次为 69.12%、72.06%、85.29%、95.59%, 准确率依次为 71.57%、82.74%、88.83%、94.92%, 其中实时荧光定量 PCR 检测的准确率明显高于内镜检查、¹⁴C 尿素呼气试验及血清学检查, 差异均有统计学意义($\chi^2=38.512$ 、14.737、4.898, $P<0.05$)。结论 实时荧光定量 PCR 检测对幽门螺杆菌的诊断效能较高, 可为幽门螺杆菌感染筛查提供新思路。

关键词:幽门螺杆菌; 实时荧光定量 PCR; 内镜检查; 酶联免疫吸附试验; 尿素呼气试验; 诊断价值

中图分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)13-1948-04

幽门螺杆菌最初于消化性溃疡和慢性胃炎患者胃黏膜中发现, 是一种微需氧的革兰阴性菌。通过亲密接触、口-口和粪-口等途径传播, 幽门螺杆菌已成为全球感染范围最广的细菌之一^[1]。近年来大量研究证明, 除消化性溃疡和慢性胃炎外, 幽门螺杆菌感染还与胃部肿瘤的发生关系密切^[2]。此外, 神经系统、心血管系统及皮肤、眼科等非消化系统疾病的发生、

发展进程中也可见幽门螺杆菌的介导作用^[3-4]。因此, 积极治疗幽门螺杆菌感染对保护患者身体健康具有重要意义。幽门螺杆菌感染的准确诊断是治疗的先决条件, 目前临床幽门螺旋菌感染的诊断常采用¹⁴C 尿素呼气试验、内镜及血清学检查, 但这几种方法检测的准确性尚达不到临床预期。细菌培养虽准确性较高, 但检查周期长。故本研究拟对疑似幽门螺旋菌

[△] 通信作者, E-mail:729203997@qq.com.

感染患者采用实时荧光定量 PCR 检测,以探究是否能为临床筛查提供优化方案。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性选择重庆市垫江县人民医院 2018 年 9 月至 2020 年 5 月收治的临床表现为上消化道症状患者 197 例,其中男 103 例,女 94 例;年龄 23~64 岁。纳入标准:(1)有不同程度的反酸、嗝气、餐后后腹痛腹胀等消化道症状;(2)接受内镜胃活组织检查;(3)能明白医生指令配合完成检查。排除标准:(1)合并内镜检查禁忌证;(2)肝、胆及胰腺疾病确诊;(3)合并胃癌或其他恶性肿瘤;(4)入组前 2 周内有关抗药物、抑酸剂、抗凝剂用药史。本研究符合重庆市垫江县人民医院医学伦理委员会相关规定并获得开展批准,所有受试者及家属对研究流程充分了解并自愿签署知情同意书。

1.2 检验及判断方法

1.2.1 内镜检查 受试者受检前 6 h 禁食,2 h 禁水,给予受试者去泡剂(四川省自贡鸿鹤制药有限公司)口服,若受试者有需求且无麻醉禁忌证,在其自愿签署麻醉告知单后可给予无痛内镜检查。所有受试者由具有独立操作资质的同级别内镜医生进行检查,采用电子放大内镜结合 LUCERA CLV-260 内镜系统(OLYMPUS 公司)进行检测。参照内镜检查标准,打开联动成像模式将内视镜经食道放至胃窦,再缓慢退镜依次观察胃窦胃体交界处、胃体、胃角和胃底。取受试者胃部发红部位及发黄部位胃黏膜组织,若无明显发红部位则只取一个部位的标本,每例受试者标本分为两份,妥善封存。借助 Pipette 取色软件测量每例受试者所有取样周围 5 cm 直径圆圈内 R、G、B 值,再根据所得的均值计算 $R/(G+B)$,当 $R/(G+B) \geq 0.967$ 提示幽门螺杆菌感染阳性^[5]。

1.2.2 ¹⁴C 尿素呼气试验 受试者受检前 2 h 禁食,取一粒¹⁴C 尿素胶囊(深圳市中核海得威生物科技有限公司,批准文号:国药准字 H20068129,规格:2.78×10⁻²MBq(0.75×10⁻³MCi)/粒×40 粒),受试者温水送服,静坐 0.5 h 后取一加盖样品管收集受试者呼气标本,待样品管中捕集液由紫色变为无色提示标本收集完成。采用幽门螺杆菌测试仪(深圳海得威公司,型号:HUBT-20P)检测呼气样本中每 1 mol 二氧化碳每分钟衰变指数,当衰变指数 ≥ 50 ,则判断为幽门螺杆菌感染阳性^[6]。

1.2.3 血清学检测 抽取受试者静脉血 4 mL,采用离心机(湖南长沙湘仪离心机仪器有限公司,型号:L535)分离血清,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测幽门螺杆菌 IgG 抗体,试剂盒购于美国 PBM 公司。当 IgG 抗体滴度 ≥ 20 U/mL 提示幽门螺杆菌感染阳性^[7]。

1.2.4 实时荧光定量 PCR 检测 将受试者胃黏膜组织充分剪碎、研磨,采用 RNA 提取试剂盒提取标本

中的总 RNA,加入引物,引物序列:上游 5'-TCT-GTCGCAAGCTGGCATCGT-3',下游 5'-TCCATA-ACATGCTCTCATCAT-3'。依次经预变性(94 °C, 3 min)、变性(90 °C, 1 min)、退火(65 °C, 1 min)、延伸(68 °C, 1.5 min)处理,重复退火及延伸操作 39 次以增加产物量。以 GAPDH 作为内参,采用 2^{-ΔΔCt} 法计算幽门螺杆菌 DNA 相对表达水平。

1.2.5 细菌培养 将受试者胃黏膜组织接种至哥伦比亚血培养基。将培养基置于微需氧环境中恒温(37 °C)培养,4 d 后观察菌落形态。幽门螺杆菌感染阳性表现为:菌落呈细小针尖样,部分融合成片,无色透明,表面湿润且光滑。采用革兰染液对菌落染色,油镜下镜检幽门螺杆菌感染阳性表现为:颜色呈红色,形状呈典型海鹤状或弧形。本研究将细菌培养结果作为检测幽门螺杆菌感染的“金标准”。

1.3 统计学处理 采用 SPSS23.0 软件进行数据处理及统计分析。计数资料采用频数或百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用受试者工作特征(ROC)曲线对几种方法的检验效能进行分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 “金标准”检验结果 细菌培养结果显示,幽门螺杆菌感染阳性受试者 129 例,阴性 68 例,阳性率为 65.48%。

2.2 各方法诊断幽门螺杆菌感染的 ROC 曲线分析 内镜检查、¹⁴C 尿素呼气试验、血清学检查、实时荧光定量 PCR 检测幽门螺杆菌感染的 ROC 曲线下面积依次为 0.756、0.838、0.939 与 0.985,其中 PCR 的曲线下面积最大。见表 1、图 1。

表 1 不同检验方法对幽门螺杆菌检验效能比较

检测方式	AUC	P	95%CI
内镜检查	0.756	<0.001	0.689~0.824
¹⁴ C 尿素呼气试验	0.838	<0.001	0.775~0.901
血清学检查	0.939	<0.001	0.906~0.972
实时荧光定量 PCR 检测	0.985	<0.001	0.972~0.998

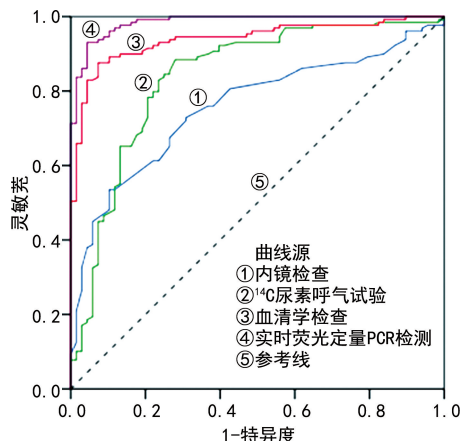


图 1 各方法检测幽门螺杆菌感染效能的 ROC 曲线分析

2.3 各方法检验结果与“金标准”检验结果比较 内镜检查、¹⁴C 尿素呼气试验、血清学检查、实时荧光定量 PCR 检测幽门螺杆菌感染的灵敏度依次为 72.87%、88.37%、90.69%、94.57%，特异度依次为 69.12%、72.06%、85.29%、95.59%，准确率依次为 71.57%、82.74%、88.83%、94.92%，其中实时荧光定量 PCR 检测的准确率明显高于内镜检查、¹⁴C 尿素呼气试验及血清学检查，差异均有统计学意义 ($\chi^2 = 38.512, 14.737, 4.898, P < 0.05$)。见表 2。

表 2 不同检验方法与细菌培养检测结果对比

检测方法	性质	细菌培养		灵敏度 (%)	特异度 (%)	准确率 (%)
		阳性(n)	阴性(n)			
内镜检查	阳性	94	21	72.87	69.12	71.57
	阴性	35	47			
¹⁴ C 尿素呼气试验	阳性	114	19	88.37	72.06	82.74
	阴性	15	49			
血清学检查	阳性	117	10	90.69	85.29	88.83
	阴性	12	58			
实时荧光定量 PCR 检测	阳性	122	3	94.57	95.59	94.92
	阴性	7	65			

3 讨论

幽门螺杆菌是最常见的病原菌之一，全球约一半的人口为其感染者。流行病学显示，亚洲人群中幽门螺杆菌感染率明显高于欧美人群，这可能与亚洲家族聚居习惯及幽门螺杆菌传染方式有关。我国幽门螺杆菌感染人口呈逐年上升趋势^[8]。全球多个研究中心均证实，幽门螺杆菌感染与消化道疾病密切相关，近年来证实，神经、血液、心血管系统疾病的发生与幽门螺杆菌感染有关^[4-9]。准确诊断幽门螺杆菌感染，对后期治疗及抑制感染的传播具有积极意义。

目前，临床诊断幽门螺杆菌感染的常用方法有细菌培养、内镜检查、血清学试验及¹⁴C 尿素呼气试验等，前二者属于侵入性检测，后二者属于非侵入性检测。内镜检测是指将带有镜头的软管经咽喉置入胃中，该方法可直接观测到胃部黏膜状态，并根据黏膜是否异常红肿这一征象，间接判断是否有幽门螺杆菌感染^[10]。该方法可较快速得出结论，但对于部分受检者较痛苦，且胃部情况观察及结果判断受操作医生主观影响较大，检查灵敏度及特异度较低。细菌培养是将受试者胃黏膜标本置于微氧恒温的营养培养基中以模拟其在胃内的生存环境，根据培养菌落的外形特点及革兰染色结果对幽门螺杆菌感染情况进行判断。细菌培养灵敏度及准确度均可达到 95% 以上^[11]。且细菌培养可用于药敏检测，对临床合理选择抗菌药物提供依据^[12]。但细菌培养时间周期较长，检测过程中可能因标本质量不佳、受其他杂菌污染、运输及储存不当而影响检测结果。本研究采用的血清学检测方

法为 ELISA 法，通过既有特定试剂盒对受试者血清中的幽门螺杆菌抗体进行检测，操作较简便；但血清学抗体检验不能区分既往感染和现症感染，故其在临床中的应用受到一定限制^[13]。¹⁴C 尿素呼气试验凭借其操作简便、结果可靠度较高等特点，成为临床应用最广泛的幽门螺杆菌感染检测方法之一。其操作过程对受试者而言痛苦较小，但检测过程中口服的¹⁴C 胶囊具有放射性，对幼儿、孕妇及有怀孕计划的育龄期受试者并不适用^[14]。

实时荧光定量 PCR 技术以荧光物质作为标记，在 DNA 扩增过程中检测每次 PCR 循环后目的 DNA 的表达量，并通过特定内参定量分析^[15]。目前，实时荧光定量 PCR 在临床已被广泛应用，在肝炎、获得性免疫缺陷综合征、禽流感等感染性疾病，地中海贫血等遗传疾病，肿瘤诊断及胎儿排畸过程中均有重要意义^[16-17]。故而本研究采用实时荧光定量 PCR 法检测幽门螺杆菌感染情况。本研究结果显示，纳入的 197 例具有上消化道症状的受试者有 129 例细菌培养呈阳性，阳性率为 65.48%。以细菌培养结果作为“金标准”，将内镜检测、¹⁴C 尿素呼气试验、血清学检测及实时荧光定量 PCR 检测结果进行 ROC 曲线分析，得出实时荧光定量 PCR 检测的 AUC 面积最大，为 0.985。说明其检测幽门螺杆菌感染的效能较高。且实时荧光定量 PCR 检测准确率、灵敏度及特异度分别为 94.92%、94.57% 与 95.59%，进一步说明其检测幽门螺杆菌感染的效能较高。且本研究发现，实时荧光定量 PCR 检测时间较短，相对于细菌培养标本要求限制更少，新鲜标本及石蜡包埋样本均可进行检测。

综上所述，实时荧光定量 PCR 检测诊断幽门螺杆菌的准确性及灵敏度较高，有望为临床幽门螺杆菌感染筛查提供新思路。但本研究纳入标本较少，后期应进一步扩大标本量以获得更准确的结果。

参考文献

- [1] PEREIRA V, ABRAHAM P, NALLAPETA S, et al. Gastric bacterial Flora in patients Harboring Helicobacter pylori with or without chronic dyspepsia: analysis with matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. BMC Gastroenterol, 2018, 18(1):20.
- [2] MATSUKURA N, ONDA M, YAMASHITA K, et al. Helicobacter pylori in peptic ulcer and gastric cancer[J]. Gan To Kagaku Ryoho, 1995, 22(2):169-178.
- [3] 王雪, 李异玲. 幽门螺杆菌感染与神经系统疾病的关系[J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(7):80-83.
- [4] 信芳杰, 杨文毅, 刘晓东, 等. 全自动特殊染色机检测胃幽门螺杆菌的使用体会[J]. 临床与实验病理学杂志, 2018, 34(11):106-107.
- [5] 王菲, 陈石岩, 谭新华, 等. 联动成像内镜与白光内镜对胃黏膜感染幽门螺杆菌的诊断价值比较[J]. 实用医学杂

志, 2017, 33(14): 2325-2328.

[6] 赵媛媛, 许建明, 张磊, 等. 幽门螺杆菌感染常用诊断方法的对比研究[J]. 中华消化内镜杂志, 2016, 33(6): 383.

[7] 方瑞芳, 林庆顺, 方云其. 4 种幽门螺杆菌感染的检测对消化不良患者的诊断[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(3): 156-157.

[8] 王芬, 刘文忠. 幽门螺杆菌感染的危害和防控[J]. 疾病监测, 2018, 33(4): 18-23.

[9] MUHAMMAD J S, ZAIDI S F, SAEED S A, et al. Current status of Helicobacter pylori association with haematological and cardiovascular diseases: a mini review[J]. J Pakistan Med Assoc, 2017, 67(6): 907-911.

[10] ITOH T, KAWAHIRA H, NAKASHIMA H, et al. Deep learning analyzes Helicobacter pylori infection by upper gastrointestinal endoscopy images[J]. Endosc Int Open, 2018, 6(2): 139-144.

[11] 郭长城, 印琳, 陈峥宏, 等. 胃内尿素酶阳性细菌对幽门螺杆菌感染诊断的影响[J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(2): 127-130.

[12] REZAEIMANESH N, FARZI N, PIRMANESH S, et al. Management of multi-drug resistant Helicobacter pylori

infection by supplementary, complementary and alternative medicine; a review[J]. Gastroenterol Hepatol Bed Bench, 2018, 10(11): 8-14.

[13] 俞莹莹, 宋震亚, 王静华, 等. 体检人群血清现症感染蛋白抗体检测幽门螺杆菌现症感染的评价[J]. 中华健康管理学杂志, 2019, 13(2): 142-144.

[14] 万维松, 王乐, 胡余昌, 等. 免疫组化染色与¹⁴C 尿素呼气试验在幽门螺杆菌相关胃炎诊断中的比较[J]. 临床与实验病理学杂志, 2019, 35(1): 51-54.

[15] FOROOTAN A, SJÖBACK R, BJÖRCKMAN J, et al. Methods to determine limit of detection and limit of quantification in quantitative real-time PCR (qPCR)[J]. Biomol Detect Quantif, 2017, 12(2): 1-6.

[16] 曾祥兴, 曾小琼, 陈继鸿, 等. 广东河源客家人群 α-地中海贫血基因变异类型分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(5): 588-591.

[17] ALMAGHRABI R S, OMRANI A S. Middle east respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection[J]. British J Hosp Med, 2017, 78(1): 23-26.

(收稿日期: 2020-09-25 修回日期: 2021-02-19)

• 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2021. 13. 035

唑来膦酸对绝经后骨质疏松性股骨转子间骨折患者 PFNA 内固定术后骨代谢生化指标的影响

庞彬¹, 李飞^{2△}

1. 重庆市渝北区人民医院骨二科, 重庆 401120; 2. 重庆市开州区人民医院骨科, 重庆 405400

摘要:目的 探讨唑来膦酸对绝经后骨质疏松性股骨转子间骨折患者股骨近端防旋髓内钉(PFNA)内固定术后骨代谢生化指标的影响。方法 选择 2016 年 1 月至 2020 年 3 月重庆市渝北区人民医院收治的绝经后股骨转子间脆性骨折患者 100 例, 随机分为观察组(PFNA 联合唑来膦酸治疗)和对照组(仅 PFNA 治疗), 每组 50 例, 对比两组术前和术后半年骨代谢生化指标变化情况。结果 手术前, 两组甲状旁腺素(PTH)、总 25(OH)维生素 D3(VITD-T)、N-中段骨钙素(OSTEOC)、血浆骨碱性磷酸酶(BAP)、总 I 型胶原氨基端延长肽(TPINP)、β 胶原降解产物(β-Crossl)水平比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。观察组术后半年 PTH、VITD-T 水平明显高于术前; 术后半年观察组 PTH、VITD-T 水平明显高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。观察组术后半年 OSTEOC、BAP、TPINP、β-Crossl 水平明显低于术前; 对照组术后半年 TPINP、β-Crossl 水平明显低于术前; 术后半年观察组 OSTEOC、BAP、TPINP、β-Crossl 水平明显低于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 唑来膦酸能够明显改善绝经后骨质疏松性股骨转子间骨折患者 PFNA 内固定术后的骨代谢。

关键词: 唑来膦酸; 股骨近端防旋髓内钉; 内固定术; 绝经后骨质疏松; 股骨转子间骨折; 骨代谢生化指标

中图分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)13-1951-04

绝经后股骨转子间骨折多是由髋部骨质疏松引起, 在轻微暴力作用下易发生骨折, 骨折后长期卧床易出现卧床并发症, 如坠积性肺炎、泌尿系统感染、褥疮等, 病死率高达 15%~20%^[1], 通过股骨近端防旋

髓内钉(PFNA)治疗股骨转子间骨折可让患者尽早下床活动, 防止骨折并发症, 降低患者死亡风险^[2]。但 PFNA 不能完全解决患者因骨质疏松症引发的股骨转子间骨折的基础问题, 可能导致患者骨折愈合较

△ 通信作者, E-mail: aph860@aliyun.com。

本文引用格式: 庞彬, 李飞. 唑来膦酸对绝经后骨质疏松性股骨转子间骨折患者 PFNA 内固定术后骨代谢生化指标的影响[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(13): 1951-1954.