

免疫印迹法检测儿童幽门螺杆菌感染及其分型

马 莹, 姜立茹(西安市中心医院检验科 710003)

【摘要】 目的 回顾性分析 2011 年 11 月至 2012 年 12 月本院 469 例儿童幽门螺杆菌感染及其分型结果。**方法** 采用免疫印迹法进行血清学分析,检测结果采用 χ^2 检验。**结果** 469 例共检测出阳性结果 86 例,阳性率为 18.3%(86/469),其中 I 型 62 例,占总阳性 72.1%(62/86);II 型 24 例,占总阳性 27.9%(24/86)。男 37 例,女 49 例,按年龄分三组,年龄组间阳性率和分型进行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 。**结论** 免疫印迹方法特别适用于检测儿童幽门螺杆菌感染及其分型。

【关键词】 幽门螺杆菌; 儿童; 分型; 免疫印迹

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.13.017 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)13-1670-01

Detection of *Helicobacter pylori* infection in children and its typing with immunoblot assay MA Ying, JIANG Li-ru (Department of Clinical Laboratory, Xi'an Central Hospital, Xi'an, Shaanxi 710003, China)

【Abstract】 Objective To retrospective analysis 469 cases of children with *Helicobacter pylori* infection and its typing in our hospital from November 2011 to December 2012. **Methods** Western blot was used for serological analysis, detection **Results** using χ^2 test. **Results** 86 cases was positive **Results** in 469 cases, the positive rate was 18.3%(86/469), Type I 62 cases, accounting for 72.1%(62/86) of total positive; type II 24 cases, accounting for 27.9%(24/86) of total positive; Male 37 cases, female 49 cases, divided into three groups according to age, age groups the positive rate and typing with χ^2 test, $P < 0.05$. **Conclusion** *Helicobacter pylori* in children with a certain proportion of the infection rate, there is statistical significance between the age groups, it was highest infection rate in 11-15 years old, for type I, Western blot method has less amount of samples, rapid detection, high specificity and high sensitivity, is especially suitable for the detection of *Helicobacter pylori* infection in children and its typing.

【Key words】 *Helicobacter pylori*; children; type; western blot

幽门螺杆菌(Hp)自 1983 年由 Warren 及 Marshall 发现以来一直为国内外学者研究热点^[1]。目前研究结果已经确认幽门螺杆菌与慢性胃炎、消化性溃疡病、胃黏膜相关性淋巴组织样(MALT)恶性淋巴瘤及胃癌等疾病密切相关^[2]。儿童为幽门螺杆菌易感人群,成人期幽门螺杆菌感染也一般来源于儿童时期感染,儿童一旦感染可能会影响其生长发育。本研究分析了 2011 年 11 月至 2012 年 12 月 469 例儿童幽门螺杆菌的感染及其分型,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011 年 11 月至 2012 年 12 月本院 469 例随诊检测幽门螺杆菌抗体患儿,男 232 例,女 237 例;年龄 1~15 岁,平均(6.91±3.12)岁;1~5 岁 98 例,6~10 岁 195 例,11~15 岁 176 例。所有患儿抽静脉血 2 mL,离心取 10 μ L 血清检测,多次检查者只取首次资料。

1.2 仪器及试剂 生化摇摆平台由上海长江生化仪器有限公司提供,免疫印迹试剂盒由深圳伯劳特生物制品有限公司提供。

1.3 研究方法 采用免疫印迹进行血清学检测,严格按照试剂说明书及 SOP 文件操作,待阳性带显色清晰,即加终止液 0.5 mL,2 min 后弃去液体,用自来水冲洗后取出印迹膜,晾干后对比《标准带》判断结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS10.0 软件进行统计分析,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 幽门螺杆菌相关抗体检测及临床分型 469 例标本共检测出阳性结果 86 例,男 37 例,女 49 例,阳性率为 18.3%(86/

469),分别为 CagA、VacA、UreA、UreB 均阳性 13 例,占总阳性 15.1%(13/86);CagA、VacA、UreB 阳性 13 例,占总阳性 15.1%(13/86);CagA、UreB 阳性 30 例,占总阳性 34.9%(30/86);CagA、UreA 阳性 1 例,占总阳性 1.2%(1/86);VacA、UreA、UreB 均阳性 5 例,占总阳性 5.8%(5/86);UreA、UreB 均阳性 3 例,占总阳性 3.5%(3/86);UreA 阳性 16 例,占总阳性 18.6%(16/86);UreB 阳性 5 例,占总阳性 5.8%(5/86)。其中 I 型 62 例,占总阳性 72.1%(62/86),II 型 24 例,占总阳性 27.9%(24/86)。

2.2 幽门螺杆菌抗体阳性年龄分布特征 按照年龄分布分三组。1~5 岁组阳性 15 例,阳性率 15.3%(15/98);6~10 岁组阳性 28 例,阳性率 14.4%(28/195);11~15 岁组阳性 43 例,阳性率 24.4%(43/176)。年龄组间阳性率和分型进行 χ^2 检验,年龄组差异有统计学意义($P < 0.05$),11~15 岁间感染率最高,以 I 型为主。

3 讨论

幽门螺杆菌是一种微需氧革兰阴性菌,1994 年世界卫生组织(WHO)已将其列为胃癌的头号致癌因子,临床上一般将其分为两类^[3]:即 I 型和 II 型。I 型为产细胞毒素 Hp 菌株,其免疫活性蛋白区带有 128、116、110、95、91、66、60、54、50、33、30 $\times 10^3$ 等。其中细胞毒(Cag A)蛋白与 128、116、110 $\times 10^3$ 区带有关,空泡毒素(Vac A)蛋白与 95、91 $\times 10^3$ 区带有关,尿素酶蛋白与 66、60、33、30 $\times 10^3$ 区带有关,鞭毛蛋白与 54、50 $\times 10^3$ 区带有关。这类菌株能使胃上皮细胞出现空泡、变形和损害,易引起溃疡和诱发癌变。II 型是不产生细胞毒素的 Hp,即 Cag A 和 Vac A 阴性菌株,这类菌株毒性(下转第 1673 页)

结合,激活了 RNaseH,降解杂交双链中的 RNA,从而阻断蛋白质的翻译过程。(2)HepG₂ 2. 2. 15 细胞中整合的 HBV DNA 持续产生 mRNA,逐渐使细胞内的 LNA 稀释,不足以发挥有效作用。前期研究表明当等量隔天反复投药时,抑制率随反义核酸作用时间的延长表现为缓慢增高趋势^[6]。本研究还显示 LNA 能显著抑制细胞内外 HBV DNA 的合成,与传统的反义寡核苷酸相比抗病毒效果更好($P<0.05$),这可能与 LNA 的高亲和力、良好的抗核酶降解能力和水溶性有关^[7-8]。

MTT 实验证实 LNA 本身不影响宿主细胞正常的增殖与代谢,可见 HepG₂ 2. 2. 15 细胞 HBsAg 分泌减少主要是 LNA 以序列特异性方式作用于 HBV 基因引起的,而不是 LNA 本身毒性导致细胞活性的显著降低。LNA 如何有效进入靶细胞发挥特异性抗病毒作用是基因治疗的关键,反义寡核苷酸能通过胞饮的方式直接穿过胞膜,进入细胞发挥“基因封条”的作用,但采取直接导入的方式需要足够剂量的 LNA 才能在靶细胞内达到药效浓度,而增加含量会产生细胞毒性作用。此外,体外合成的 LNA 只能抑制病毒不能彻底消灭,因此如何找到一种满意的肝靶向性核酸药物载体是开发特异性抗 HBV 药物亟待解决的难题。已有文献报道利用脂质体技术将 LNA 导入靶细胞内是一条可行的途径^[9]。本文在细胞水平上探讨了 LNA 成为新一代分子药物治疗乙肝的可能性,为抗 HBV 药物筛选和临床应用提供了一个很好的依据,LNA 显示出更好的反义活性但它的抗 HBV 作用必须进一步通过动物实验及临床试验验证。

参考文献

[1] Buti M, Esteban R. Drugs in development for hepatitis B

(上接第 1670 页)

较小,感染后一般只是引起慢性浅表性胃炎而无临床症状。世界上超过半数的人感染 Hp,但并不是所有的 Hp 都产生空泡毒素,只有 50%~60% 具有空泡毒素活性的 Hp 才是产毒菌株^[4]。因此对指导 Hp 感染的治疗具有重要的意义。免疫印迹试验是将标准的 Hp 产毒株 CagA 阳性和 VacA 阳性的各种抗原成分提取出来,用聚丙烯酰胺凝胶电泳按分子量大小不同依次分开,再将其转印至印迹膜上,如果被检者血清有相应抗体,应用酶联免疫反应,就会在抗原的相应位置出现显色区带,据此可判断出被检血清中各种 Hp 抗体^[5]。根据抗体的不同可推断 Hp 类型,根据显色带的强弱、消长可观察治疗效果,预测溃疡有无复发的可能性。

临床上用来诊断感染的方法很多^[6-10]。如取胃组织作快速尿酶测定,组织切片染色,细菌培养,¹⁴C 呼气试验等,但 these 方法结果易受试剂质量,标本量,反应时间,环境温度,用药情况,主观经验的影响,还需采用侵入性、创伤性的手段来采集样本,给患者带来一定的痛苦和心理负担;另外,所需的仪器昂贵,代价较高,限制了临床的普及。免疫印迹法能同时检出全部抗体,并且根据抗体的不同,能判定的类型并预测胃病的严重程度。此外免疫印迹法为无创伤性诊断检测方法,还具有敏感性高、特异性强、方法简单、时间短等特点,具有较大应用价值,值得临床推广使用。

参考文献

[1] Etukudo OM, Ikpeme EE, Ekanem EE. Seroepidemiology of helicobacter pylori infection among children seen in a

[J]. Drugs, 2005, 65(11): 1451-1460.
[2] 于乐成,何长伦,汪茂荣. 乙型肝炎肝硬化抗病毒治疗的研究进展[J]. 实用肝脏病杂志, 2010, 13(4): 245-248.
[3] Veedu RN, Wengel J. Locked nucleic acids; promising nucleic acid analogs for therapeutic applications[J]. Chem Biodivers, 2010, 7(3): 536-542.
[4] Veedu RN, Wengel J. Locked nucleic acid as a novel class of therapeutic agents[J]. RNA Biol, 6(3): 321-323.
[5] Kaur H, Scaria V, Maiti S. "Locked onto the target": increasing the efficiency of antagomirzymes using locked nucleic acid modifications [J]. Biochemistry, 2010, 49(44): 9449-9456.
[6] 唐盈,王燕菲. 针对 HBV S 基因的反义锁核酸抗乙型肝炎病毒表达的初探[J]. 江西医药, 2006, 41(4): 205-208.
[7] Kaur H, Babu BR, Maiti S. Perspectives on chemistry and therapeutic applications of Locked Nucleic Acid (LNA) [J]. Chem Rev, 2007, 107(11): 4672-4697.
[8] Vester B, nucleic WL. High-affinity targeting of complementary RNA and DNA[J]. Biochemistry, 2004, 43(42): 13233-13241.
[9] 邓益斌,王燕菲. 阳离子脂质体介导双靶区反义锁核酸抗病毒疗效研究[J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2008, 35(3): 149-153.

(收稿日期:2013-01-16 修回日期:2013-02-12)

tertiary hospital in Uyo, southern Nigeria[J]. Pan Afr Med J, 2012, 12(3): 39.
[2] 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.
[3] 王瑞锋. 儿童幽门螺杆菌感染检测方法评估[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(5): 564-566.
[4] 陈海英,番敏,张柳. 免疫印迹技术在临床幽门螺杆菌检测中的应用[J]. 中国实验诊断学, 2006, 10(9): 995-996.
[5] 王丽姣,周国华,冷明芳,等. 免疫印迹试验在检测幽门螺杆菌感染中的临床价值[J]. 临床消化病杂志, 2012, 24(3): 182-183.
[6] 李红娟. 某电力公司员工幽门螺杆菌检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(8): 937.
[7] 周洪. 幽门螺杆菌实验检测技术的研究进展[J]. 中国医药指南, 2012, 10(22): 103-105.
[8] 胡久叶,杜晓莉,黄莉. ¹⁴C 一尿素呼气试验在诊断幽门螺杆菌感染中的价值[J]. 湘南学院学报:医学版, 2008, 10(3): 36-37.
[9] 王晓波,庄小芳,郭峰. 2 种非侵入检测方法对幽门螺杆菌感染的诊断价值[J]. 新疆医科大学学报, 2012, 35(7): 949-952.
[10] 周兴,袁伟. PCR 检测技术在幽门螺杆菌诊断检测中的应用探讨[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(19): 2430-2431.

(收稿日期:2012-12-21 修回日期:2013-03-02)