

医药卫生

ROC 曲线评价酶免法检测消化病患者幽门螺杆菌

王志红¹ 曹建彪^{2*} 闫伟¹

(北京军区总医院消化内科¹,肝病科²,北京 100700)

摘要 为探讨消化病患者粪便幽门螺杆菌特异性抗原(*Hp* Stool antigen, HpSA)在诊断 *Hp* 感染中的临床意义,随机收集353例北京军区总医院消化内科住院和门诊患者病例,其中男性206例,女性147例,年龄范围(14—89)岁,平均年龄约49岁。入组者均空腹6 h以上,留取新鲜粪便标本,应用酶免疫法(EIA)检测 HpSA,同时以¹³C-尿素呼气试验(¹³C-UBT)作为金标准。应用SPSS15.0软件对数据进行统计学分析,并绘制受试者操作特征分析曲线(Receiver Operating Characteristic curve, ROC curve),评价 HpSA 试验的诊断价值。 χ^2 检验结果表明 EIA 法检测 *Hp* 感染与¹³C-UBT 比较差异无显著性($p > 0.05$); EIA 法检测 HpSA 敏感度94.35%,特异度98.30%,阳性预测值98.24%,阴性预测值94.54%,阳性似然比55.5,阴性似然比0.06,符合率96.32%,Youden 指数0.93,Kappa 值0.93;EIA 法检测 HpSA 的 ROC 曲线下面积为0.944,与完全无诊断价值的机会线下面积0.50相比差异显著($p < 0.001$)。说明 HpSA 是一种非侵入性诊断 *Hp* 感染的方法,准确性和可靠性均较高,值得推广应用。

关键词 幽门螺杆菌 粪便 抗原 消化疾病 诊断试验

中图分类号 R446.61; **文献标志码** B

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *Hp*)感染是慢性活动性胃炎和消化性溃疡的主要病因,与胃癌、胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤的发生密切相关。粪便幽门螺杆菌特异性抗原(*Helicobacter pylori* Stool Antigen, HpSA)试验是一种非侵入性检测 *Hp* 的方法;其原理是由于 *Hp* 定植于胃上皮细胞表面,而随着胃上皮细胞的快速更新,*Hp* 也随着细胞脱落,经过肠道随粪便排除体外,现已将检测 HpSA 作为临床诊断 *Hp* 现症感染的方法之一^[1]。本研究旨在探讨应用 EIA 法检测 HpSA 的准确性和可靠性。

1 材料和方法

1.1 检测对象

随机选择2008年12月~2009年4月在我院消化内科住院和门诊患者,排除4周内服用过抗生素、铋剂或质子泵抑制剂等对 *Hp* 检测有影响的药物以及严重腹泻或水样便患者。入组患者353例,平均年龄约49.00岁(14岁~89岁)。其中男206例,女147例。

1.2 标本采集

1.2.1 EIA 法检测 HpSA 用标本采集

留取入组者空腹6 h以上的新鲜粪便标本于无介质溶液的洁净便盒内并从中称取新鲜粪便约100 mg,标明并放入另一洁净便盒内, -30℃冻存备用。

1.2.2 ¹³C-UBT

试验前4周末用过抗生素和质子泵抑制剂,试

2011年1月26日收到,2月14日修改

第一作者简介:王志红(1953—),安徽宿县人,主任技师,中华医学会微生物与免疫学会会员。研究方向:炎症性肠病的基础及大肠癌早期诊断方法。

*通信作者简介:曹建彪。E-mail:caojianbiao@sina.com。

验当日须空腹 >3 h 进行检测。

1.3 试剂与仪器

粪便幽门螺杆菌抗原酶免疫试剂盒(台湾德克国际有限公司);全自动多功能酶标仪(芬兰雷勃公司 Multiskan MK3);¹³C-UBT 质谱仪(ZHP—2001 型,北京原子高科科仪有限公司),尿素【¹³C】胶囊呼气试验药盒(北京原子高科有限公司)。

1.4 诊断标准

参照中华医学会消化病学分会幽门螺杆菌学组 2007 年庐山会议提出的《第三次全国幽门螺杆菌感染若干问题共识报告》^[2],设定¹³C-UBT 为诊断 *Hp* 现症感染的“金标准”。

1.5 方法

1.5.1 EIA 和¹³C-UBT 原理

1.5.1.1 EIA 法

采用双抗体夹心法。以过量的纯化兔抗人 *Hp* 多克隆抗体包被微孔板,加入待测样品与固化抗体反应,经孵育、清洗后加入过量的山葵过氧化酶标记抗体(与抗原结合的酶标抗体活性反映被检抗原的含量),再经孵育、清洗,加入底物显色、终止液中止反应,最后经酶标仪检测。

1.5.1.2 ¹³C-UBT

Hp 具有较强的尿素酶,它能分解胃中的尿素,当摄入稳定核素¹³C 标记的尿素后,¹³C-尿素便在尿素酶作用下,分解为氨和二氧化碳(CO²),CO² 经血液循环进入肺而呼出体外;收集受检者呼出的 CO₂,通过气体核素质谱仪测定呼气中¹³C/¹²C 比值^[4]的变化,即可诊断是否存在 *Hp*。

1.5.2 *HpSA* 检测及结果判定

按照试剂盒说明书,采用 EIA 法检测 *HpSA*;结果由分光光度计(波长 450 nm)检测判定:ODE 0.161 为阳性、ODE 0.140 为阴性、ODE 0.141 和 0.160 为不确定(不确定标本须重新检测,三次结果不确定的标本不予采用)。

1.5.3 ¹³C-UBT 及结果判定

受试者在采便当日同时检查¹³C-尿素呼气试验;结果由¹³C-UBT 质谱仪检测判定:DOB(delta over baseline)值>4 为阳性,即存在 *Hp* 感染。

1.5.4 统计学方法

应用 SPSS15.0 软件对数据进行统计学分析。配对计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。绘制 ROC 曲线,以曲线下面积(Area Under the Curve, AUC)评价 *HpSA* 试验的诊断价值(AUC:0.5—0.6 为无意义、0.6—0.7 为差、0.7—0.8 为一般、0.8—0.9 为好、0.9—1.0 为优秀)。

2 结果

2.1 ¹³C-尿素呼气试验诊断 *Hp*

353 例患者中¹³C-UBT^阳性者 177 例,诊断 *Hp* 感染率为 50.14%。

2.2 EIA 法检测 *HpSA*

353 例患者中 EIA 法检测 *HpSA* 阳性者 170 例,检测阳性率为 48.16%。

2.3 EIA 法检测 *HpSA* 与¹³C-UBT 诊断 *Hp* 的比较

¹³C-UBT^阳性者 177 例,EIA 法检测 *HpSA* 阳性者 170 例,两法检测 *Hp* 感染阳性者的差别无统计学意义($\chi^2 = 2.77$ $P = 0.09 > 0.05$) (见表 1)。

EIA 法检测 *HpSA* 敏感度为 94.35%;特异度 98.30%;阳性预测值 98.24%,阴性预测值 94.54%;阳性似然比 55.5,阴性似然比 0.06;假阳性率 1.70%,假阴性率 5.65%;符合率 96.32%;Youden 指数 0.93;Kappa 值 0.93。

表 1 EIA 法检测 *HpSA* 与¹³C-尿素呼气试验的比较

	¹³ C-尿素呼气试验		
	<i>HpSA</i>	<i>Hp</i> 阳性	<i>Hp</i> 阴性
<i>Hp</i> 阳性	167	3	170
<i>Hp</i> 阴性	10	173	183
合计	177	176	353

注: $\chi^2 = 2.77$ $p = 0.092 > 0.05$

2.4 ROC 曲线分析

常规取 ROC 曲线左上方的最高点为最佳截断点^[3]。以真阳性率(true positive fraction/rate, TPF)为纵坐标,以假阳性率(false positive fraction/rate,

FPF)为横坐标绘制 ROC 曲线,并计算 ROC 曲线下面积 AUC (> 0.7 表示该指标诊断准确性较高)。经计算 AUC 为 0.944(见表 2)(见图 1)。

表 2 EIA 法检测 HpSA 的 ROC 曲线相关指标

HpSA	A	SE	95% CI	P *
	0.944	0.014	0.916,0.917	<0.001

注:A 为 AUC,SE 为 AUC 的标准误,95% CI 为 AUC 的 95% 可信区间,P* 为 AUC 与 0.5 相比较的 P 值

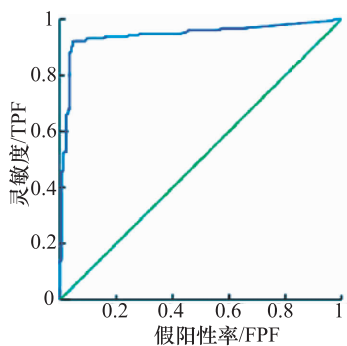


图 1 EIA 法检测 HpSA 的 ROC 曲线

注:通过 0 点的斜线为机会线,机会线上部的曲线为 EIA 检测 HpSA 的 ROC 曲线

3 讨论

流行病学调查显示,Hp 感染在世界各地均具有较高的发病率。关于 Hp 的致病性,早在 1994 年国际癌症研究中心已将其列为 I 类致癌物^[4]。韩国一项关于 Hp 感染率调查分析发现 Hp 感染率为 67%,且具有随着年龄增大而增加的现象,女性发病率高于男性^[5]。中华医学会全国 Hp 分会在 2001 年至 2004 年进行的一项涉及全国 20 个省市的自然人群 Hp 流行病学调查的结论是,我国 Hp 感染率为 40%—90%,平均 59%^[6]。我国属于 Hp 感染高发区。

1997 年 Trevisani 等^[7]首先报道采用 EIA 法检测 HpSA,Vaira 等^[8]统计了 1999—2000 年的文献资料,有 2 924 例患者用 HpSA 试验初次诊断有否 Hp 感染,结果是敏感性 93.1%,特异性 92.8%。2002 年国内开始采用 EIA 法检测 HpSA^[9—12]。在我国进

行的大样本、多中心研究中^[9],HpSA 试验的敏感性和特异性分别为 93.5% 和 94.2%。本研究采用 EIA 法检测 HpSA 敏感度为 94.35%;特异度 98.30%,与国内报道大致相同。

¹³C 呼气试验在消化系统疾病诊断中有多种应用^[13,14]:如¹³C-UBT 检测 Hp、¹³C-辛酸或¹³C-醋酸呼气试验测定胃排空、¹³C-美沙西丁呼气试验测定肝脏功能、³C-Hiolein(长链三酰甘油混合物)脂肪酸呼气试验测定胰腺功能等。由于¹³C-UBT 检测试剂可在胃内均匀分布,测定结果不受细菌点状分布的影响,具有较高的准确性,加之其特异、无创、无放射性损伤等特点而受到临床认可。¹³C-UBT 是胃部 Hp 感染诊断的金标准^[2]。

本研究采用“金标准”¹³C-UBT 诊断 Hp 的感染率为 50.14%;而采用 EIA 法检测 HpSA 诊断 Hp 感染率为 48.16%。两种检测方法比较无统计学意义(P>0.05)。其敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和符合率与国外报道相符^[15,16]。Youden 指数 0.93,表明 EIA 法检测 HpSA 的真实性较好;Kappa 值 0.93(Kappa 值:0.21—0.40 为好、0.41—0.60 为中度一致、0.61—0.80 为高度一致、0.81—1.00 为最强),表明两种检测方法的一致性在最强范围之内。

本研究结果显示,EIA 法检测 HpSA 的假阳性率和假阴性率分别是 1.70% 和 5.65%。分析原因,其一可能是由于粪便中带有多种细菌成分,其抗原成分复杂,这些抗原表面存在着相同的抗原决定簇,均可与已包被的抗体发生交叉反应,导致假阳性;其二,本研究采用的试剂是以抗 Hp 多克隆抗体包被,虽然理论上认为多抗有较好的敏感性,但国外已有文献报道发现 Hp 多抗的敏感性(80.0%)低于 Hp 单抗(94.3%)^[17,18],这可能也是导致假阴性的原因之一。另外也不排除同时存在着由于粪便成分、黏稠度及其他原因所致的假阴性。

诊断试验临床性能的评价依赖于敏感度和特异性,而敏感度和特异性取决于所选定的诊断临界值。对于多数诊断试验结果,反映疾病发生的概率分布与反映正常的概率是有重叠的,不同的临界值

所导致的结果不同:低临界值会增加假阳性,降低特异性,而高临界值则会增加假阴性,降低敏感度。因此需要在敏感度和特异性之间作综合分析,用所有可能的诊断临界值计算敏感度和特异性并作 ROC 曲线,显示敏感度和特异性之间的关系。ROC 曲线以假阳性率(即 1-特异度)为横坐标、以真阳性率(即敏感度)为纵坐标绘制而成,曲线上的每一点代表了随着诊断阈值或置信阈值变化着的敏感度和特异度的折中。在 ROC 曲线离左上角距离最近的点(即是最佳敏感度和特异性对应的点)选取阳性判断值(cut-off value)。本研究的阳性判断值 0.944 即是最佳诊断临界值。ROC 曲线下面积 AUC 可以直观反映诊断试验的准确性。本研究的 ROC 曲线表明 EIA 法检测 *Hp* 感染具有较好的诊断价值。

参 考 文 献

- 1 Vaira D, Malfertheiner P, Megraud F, *et al.* Diagnosis of helicobacter pylori infection with a new non-invasive antigen-based assay. *Lancet*, 1999;354(9172):30—33
- 2 Chinese Medical Association. The third national consensus on a number of issues the report of *Helicobacter pylori* infection. *Chinese Journal of Gastroenterology*, 2008;13(1):42—46
- 3 陈卫中,潘晓平,宋兴勃,等. ROC 曲线中最佳工作点的选择. *中国卫生统计*, 2006;23(2):157—158
- 4 Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human. Lyon: 7—14 June 1994. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum / World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, 1994;61: 1—241
- 5 Marie M A. Seroprevalence of helicobacter pylori infection in large series of patients in an urban area of Saudi Arabia. *Korean J Gastroenterol*, 2008;52(4):226—229
- 6 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. *中华医学信息导报*, 2005;20(21): 9
- 7 Trevisani L, Sartori S, Galvani F, *et al.* Two unusual techniques for diagnosing helicobacter pylori infection. *Gastroenterol Int*, 1997;10(supple 4):59—60
- 8 Vaira D, Vakil N. Blood, urine, stool, breath, money, and *Helicobacter pylori*. *Gut*, 2001;48(2):287—289
- 9 刘文忠,萧树东,王吉耀,等. 幽门螺杆菌粪便抗原试验的多中心研究. *胃肠病学*, 2002;7(3):136—139
- 10 王化冰,林三仁,周丽雅,等. 幽门螺杆菌粪便抗原试验检测幽门螺杆菌感染的临床评价. *中华消化杂志*, 2005;25(1):15—18
- 11 邢晓光,钟述猷. 酶免法检测粪便中幽门螺杆菌特异性抗原. *天津医学*, 2005;33(11):710—712
- 12 李松森,陈志星,潘玉红,等. 酶免法检测儿童粪便幽门螺杆菌抗原 63 例. *福建医药杂志*, 2005;27(1):119—121
- 13 刘懿,夏维新,郑家驹. 第二届全国呼气实验临床应用与交流会议纪要. *中华消化杂志*, 2003;23(2):105—106
- 14 王平. ^{13}C 呼气试验在消化系统疾病中的应用. *现代中西医结合杂志*, 2006;15(6):831—832
- 15 Yang H R, Seo J K. *Helicobacter pylori* stool antigen (*HpSA*) tests in children before and after eradication therapy: comparison of rapid immunochromatographic assay and *HpSA* ELISA. *Dig Dis Sci*, 2008;53(8):2053—2058
- 16 Faruqi A N, Majid U, Ahmad L, *et al.* *Helicobacter pylori* stool antigen *Helicobacter pylori* stool antigen tests (*HpSA*) for the diagnosis of gastric infection. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2007;17(6):316—319
- 17 Goto H. *Helicobacter pylori* and gastric diseases. *Nagoya J Med Sci*, 2003;66(3—4):77—85
- 18 Leodolter A, Peitz U, Ebert M P, *et al.* Comparison of two enzyme immunoassays for the assessment of *Helicobacter pylori* status in stool specimens after eradication therapy. *Am J Gastroenterol*, 2002;97(7):1682—1686

To Evaluate the EnzymeImmunoassay (EIA) for Detecting *Helicobacter Pylori* Stool Antigen (HpSA) Based on ROC Curve

WANG Zhi-hong¹, CAO Jian-biao^{2*}, YAN Wei¹

(Department of Gastroenterology, General Hospital of Beijing Military Command of Chinese PLA, Beijing 100700, P. R. China)

[**Abstract**] To evaluate the clinical utility for the *Helicobacter pylori* Stool Antigen (HpSA) of the patients with digest disease, according to the random comparison, HpSA specimens were detected by enzyme immunoassay (EIA) in 353 patients, the evaluation of Hp infection status was defined as positive when ¹³C-urea breath test (¹³C-UBT) was positive, SPSS 15.0 software package were used to analyze the data, using the relative operating characteristic (ROC) curve, to evaluate significance of the detection of HpSA in the diagnosis of Hp infection as the area under the ROC curve. It is resulted that chi-square test show that there is not significantly different diagnosis of Hp infection by EIA which comparing the gold standard ($P > 0.05$). The sensitivity and specificity of the HpSA by EIA were 94.35% and 98.30%; respectively, the positive and negative predictive values are 98.24% and 94.54%; the positive and negative likelihood ratio are 55.5 and 0.06, the accuracy is 96.32%, Youden' index 0.93, Kappa 0.93; the area under the ROC curve of EIA is 0.944. There is significantly different between them and 0.50 ($P < 0.001$). It is concluded that HpSA is a simple, non-invasive method of high accurate and reliable test which is good for popularizing in clinical.

[**Key words**] *Helicobacter pylori* feces antigen diagnosis test