

幽門桿菌快速檢測的現況與未來

Current and Future Trends in *H. Pylori* Rapid Diagnosis

洪貴香、吳俊忠

Kuei-Hsiang Hung, Jiunn-Jong Wu

發展非侵入性的幽門桿菌診斷方法一直是科學家努力的目標。尿素呼吸試驗是快速、簡單、適用於不同類型胃部疾病患者的首選。糞便抗原檢測也被廣泛地應用於大人或小孩根除幽門桿菌前後的比較。聚合酶連鎖反應由於需要胃黏膜進行檢測，因而被歸類為侵入性檢查，但是其能快速提供幽門桿菌致病因子和對抗生素 macrolide 敏感性等相關資訊，對於一些特殊檢體的檢測不失為良好的選擇。

Development of non-invasive diagnosis of *H. pylori* has been the scientists' goal. Urea breath test is fast, simple, and the first choice to the different types of gastric diseases of patients. Stool antigen tests have been extensively used in pre- and post-treatment settings both in adults and children. Polymerase chain reaction (PCR), which has been classified as invasive examination, is able to rapidly provide the information about the *H. pylori* virulence factors, susceptibility to macrolide, and to detect *H. pylori* in non-conventional specimens.

一、前言

幽門桿菌 (圖 1) 是目前所知唯一與人類癌症發生有關的細菌。根據統計在已開發國家中，成人的感染率為 20–50%；在開發中國家，幽門桿菌的感染率甚至超過 80%⁽¹⁾。台灣人感染幽門桿菌的盛行率約為 50–65%⁽²⁾。慢性胃炎 (chronic gastritis)、胃潰瘍 (gastric ulcer)、十二指腸潰瘍 (duodenal ulcer)、胃癌 (gastric adenocarcinoma) 及胃淋巴瘤 (mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma, MALT lymphoma) 等疾病均與幽門桿菌感染有關⁽³⁾，因此早期診斷及根除幽門桿菌刻不容緩。

臨床上用來檢測幽門桿菌感染的方法，依上消化道內視鏡使用與否，分為侵入性檢查及非侵入性檢查。侵入性檢查包括內視鏡檢查、組織病理學

檢查、組織快速尿素酶檢查 (rapid urease tests) 和細菌培養；非侵入性檢查包括尿素呼吸試驗 (urea breath test, UBT)、抗體檢測和糞便抗原檢測。由於每種方法在檢測靈敏度上皆有其極限，檢測方法的選擇端視靈敏度及專一性、臨床病變和檢測費用等因素而異。以下針對現今常用的檢測方法加以描述，並比較其優缺點 (表 1)。

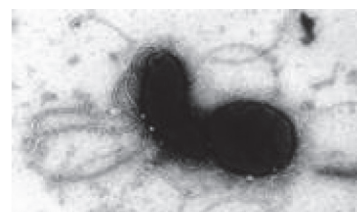


圖 1. 幽門桿菌電子顯微鏡圖 (放大 15,000 倍)。

二、幽門桿菌快速檢測方法

1. 侵入性檢查

(1) 內視鏡檢查

進行上消化道內視鏡檢查，除了讓醫生能直接透過影像觀察病患胃部情況外，還可依實際需求，夾取病灶組織進行組織病理學檢查、組織快速尿素酶檢查或細菌培養。近年來韓國發展一快速檢測幽門桿菌感染的方法－「酚紅黏膜酸鹼測定 (phenol red mucosal pH test)」。透過內視鏡，將 0.1% 酚紅

溶液平均散佈在胃黏膜上，得到的染色強度與組織病理學檢測幽門桿菌密度和尿素呼吸試驗的結果成正比⁽⁴⁾。因此內視鏡酚紅黏膜染色可作為診斷幽門桿菌感染的替代方法。另外，義大利的研究指出，在進行內視鏡檢查時，利用自動測定胃液的酸鹼值和氨含量也可用來診斷幽門桿菌感染，而且效果和尿素呼吸試驗相當⁽⁴⁾。近來新發展的高解析度內視鏡影像系統，除了兼顧傳統影像系統的功能外，還能更有效地診斷出異常的病理變化，例如胃黏膜萎縮和胃黏膜腸化生等胃癌前病變⁽⁴⁾。

表 1. 幽門桿菌快速檢測方法的優缺點

檢測方法	優點	缺點
侵入性檢查		
內視鏡檢查	<ul style="list-style-type: none"> 直接透過影像觀察胃部情況 可夾取組織，進行組織病理學檢查、組織快速尿素酶檢查和細菌培養 	<ul style="list-style-type: none"> 有出血的風險 無法偵測胃黏膜下層的病變 檢測費用昂貴
組織病理學檢查	<ul style="list-style-type: none"> 專一性高 可直接觀察是否有病變細胞存在 	<ul style="list-style-type: none"> 人為判讀容易出現誤差 若組織上幽門桿菌數量太少容易出現偽陰性
組織快速尿素酶檢查	<ul style="list-style-type: none"> 快速、靈敏度高 檢測費用低廉 	<ul style="list-style-type: none"> 靈敏度易受組織上幽門桿菌數量影響 有出血性胃潰瘍、胃酸缺乏及服用質子幫浦抑制劑者不適用
細菌培養	<ul style="list-style-type: none"> 專一性高 可進一步分析細菌特性 	<ul style="list-style-type: none"> 靈敏度較低 培養時間長
非侵入性檢查		
尿素呼吸試驗	<ul style="list-style-type: none"> 操作簡便 靈敏度和專一性高 適合小孩及孕婦快速篩檢 	<ul style="list-style-type: none"> 檢測費用昂貴 需要特殊檢測儀器 正在服用質子幫浦抑制劑、含鉍鹽化合物或抗生素者、曾經接受胃部切除手術者、長期洗腎者，以及有胃癌前病變者不適用
抗體檢測	<ul style="list-style-type: none"> 檢體取得容易，適用於血液、尿液和唾液檢體 靈敏度和專一性高 	<ul style="list-style-type: none"> 檢測費用昂貴 感染初期因抗體效價尚未提升，可能呈現偽陰性，無法用於判斷抗生素治療後是否除菌成功
糞便抗原檢測	<ul style="list-style-type: none"> 檢體取得容易 靈敏度和專一性高 	<ul style="list-style-type: none"> 檢測費用昂貴 不適用於判斷抗生素治療後是否除菌成功
分子診斷方法		
聚合酶連鎖反應	<ul style="list-style-type: none"> 快速、靈敏度和專一性高 可以測定菌株是否對抗生素 clarithromycin 有抵抗性 可進行致病基因多型性分析 	<ul style="list-style-type: none"> 檢測費用昂貴 需要特殊儀器及技術
微陣列	<ul style="list-style-type: none"> 可用於大規模檢測基因表達及突變 	<ul style="list-style-type: none"> 尚未有幽門桿菌診斷微陣列問世
拉曼光譜	<ul style="list-style-type: none"> 如同分子指紋分析，提供單一細胞內全面性資訊 	<ul style="list-style-type: none"> 尚未有幽門桿菌診斷拉曼光譜問世

(2) 組織病理學檢查

經由上消化道內視鏡夾取胃黏膜組織後，以傳統的蘇木紫及伊紅 (hematoxylin & eosin) 染色搭配特殊染色法，如 Giemsa 染色，能清楚地呈現胃黏膜病理情況及幽門桿菌感染密度，檢出率達九成以上⁽⁴⁾。2008 年泰國報告以 carbolfuschin 和 alcian blue 混合液來檢測組織上幽門桿菌感染密度，不僅可得到與傳統染色法一樣的效果，而且價格更為低廉，還能早期檢出胃黏膜癌前病變的細胞⁽⁴⁾。但是組織病理學檢查易因人為判讀和組織上幽門桿菌數量太少而出現偽陰性⁽⁵⁾。

(3) 組織快速尿素酶檢查

本方法又稱為「Campylobacter-like organism (CLO) test」，是臨床上常用的既快速 (1–24 小時) 又具有高準確度 (95–100%) 的方式。檢測原理乃利用幽門桿菌會產生尿素酶的特性，將胃黏膜組織放置在含有尿素和酚紅指示劑的膠體、紙片或液體中，若有幽門桿菌存在，則尿素酶會將尿素轉變成氨，導致酸鹼值的改變而使之呈色。本方法的限制為組織上的細菌數目若低於 10^4 以下，則不易偵測；有出血性胃潰瘍、胃酸缺乏 (achlorhydria) 以及服用質子幫浦抑制劑者不適用⁽⁶⁾。

(4) 細菌培養

從胃黏膜組織培養出幽門桿菌是最直接的診斷方式，然而檢出率僅有五至八成⁽⁷⁾。本方法受限於幽門桿菌緩慢的生長速度和特殊微需氧培養設備，而使得檢測費用高昂。科學家嘗試利用液體培養基取代傳統固體培養基，以期縮短幽門桿菌生長時間，或許能解決培養時間冗長的問題⁽⁴⁾。目前正發

展一種「細線取樣法 (string test)」，此方法不需要透過內視鏡即能快速取得胃黏膜組織，進行幽門桿菌培養。受試者吞下帶有尼龍線的膠囊，經一小時後取出進行細菌培養。此方法不僅價格較低，又能讓患者免受內視鏡檢查之苦⁽⁶⁾。

2. 非侵入性檢查

(1) 尿素呼吸試驗

尿素呼吸試驗是目前公認準確度最高且最便利的檢測方法，適用於抗生素治療前後鑑定幽門桿菌的活性。偵測方式乃口服尿素同位素碳 13，若胃裡有幽門桿菌存在，則其會利用自身的尿素酶將尿素同位素碳 13 分解為氨 (ammonia) 和重碳酸鹽 (bicarbonate)，之後重碳酸鹽被轉換成二氧化碳，經血液循環後由肺排出，因而被檢測出來 (圖 2)。尿素同位素碳 13 為非放射性同位素，很適合小孩以及孕婦快速篩檢，靈敏度和專一性高達 96–99%^(4, 8)。尿素呼吸試驗最大的缺點在於檢測費用較高，而且需要同位素質譜儀 (isotope ratio mass spectrometer) 來分析數據。正在服用質子幫浦抑制劑、含鉍鹽 (bismuth) 化合物或抗生素者、曾經接受胃部切除手術者以及長期洗腎者皆不適用。60 歲以上的人因增加胃黏膜萎縮和胃黏膜腸化生的風險，故進行尿素呼吸試驗可能會出現偽陰性^(4, 8)。

(2) 抗體檢測

幽門桿菌感染人體時會刺激免疫反應的發生，使體內產生特殊辨識幽門桿菌的抗體 (通常是 immunoglobulin G, IgG；胃中則以 IgA 為主)。因此檢測血液、尿液和唾液中辨識幽門桿菌的抗體實為快速的方式。目前偵測抗體的

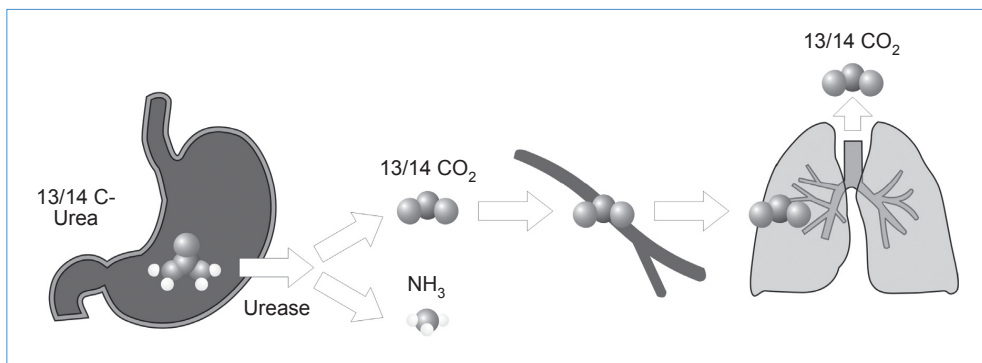


圖 2.
尿素呼吸試驗示意圖。

方式多採酵素連結免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 及免疫層析試紙分析法 (immunochromatography)，但免疫層析試紙分析法主要用於尿液檢體^(4, 6)。雖然血液檢體容易取得，而且測定時間僅需 4 小時，但是準確度不若尿液。根據國內外的研究顯示，從尿液中偵測抗幽門桿菌抗體的敏感性和專一度高達 95% 以上，而且檢測時間只需 15–20 分鐘，著實為非侵入性檢查的良好選擇，更適用於小孩或心肺重症等不適合內視鏡檢查的病患^(9, 10, 11)。然而，抗體檢測只能確定病患曾經遭受幽門桿菌感染，無法用於判斷抗生素治療後是否除菌成功；感染初期因抗體效價尚未提升，可能呈現偽陰性^(4, 7)。

(3) 糞便抗原檢測

檢測原理乃以酵素免疫分析法或免疫層析分析法，偵測糞便中的幽門桿菌抗原。由於幽門桿菌菌株彼此間的抗原組合可能因地分布位置而異，因此選用不同的檢測試劑套組，加上菌株抗原組合的差異，可能導致檢測結果的不同。根據國內外的研究顯示，酵素免疫分析法的靈敏度和專一性最好，可達 90%。因此本方法也是非侵入性檢查的另一良好選擇^(4, 6, 12)。但是，如以糞便抗原檢測來評估病患在接受抗生素治療後是否除菌成功，則準確度低於尿素呼吸試驗⁽⁴⁾。

3. 分子診斷方法

(1) 聚合酶連鎖反應

利用從胃組織中偵測幽門桿菌是極度靈敏的方法。從石蠟包埋的胃切片中進行 PCR 來測定幽門桿菌的致病基因已經行之有年。發展奈米探針進行 PCR 診斷可在 1 小時內快速偵測胃組織中的菌落，其最少偵測細菌數為 10 CFU/mL。與細菌培養相比，靈敏度為 92.5%，專一性高達 95.4%⁽¹³⁾。改良過的 PCR 方法—multiplex PCR，更能同時針對幽門桿菌的致病基因 *vacA* 進行基因多型性分析^(4, 7)。聚合酶連鎖反應—限制酶切割片段長度多型性 (PCR-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP) 和隨機增幅多型性核酸—聚合酶連鎖反應 (random amplified polymorphic DNA-PCR,

RAPD-PCR)，可直接從胃組織中鑑別幽門桿菌的方法^(4, 7)。近年來使用普及率很高的 real-time PCR 也可直接定量胃黏膜上的細菌，準確度與尿素呼吸試驗相當^(4, 7)。另一方面，PCR 還能直接測定菌株是否對抗生素 clarithromycin 有抵抗性^(7, 14)。螢光原位雜交法 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 是藉由螢光共振能量轉移分析的原理 (fluorescence resonance energy transfer assay, FRET)，放入標示螢光的探針進行 PCR 夾取 23S rRNA，並以 Light-Cycler apparatus 偵測螢光的強度變化，以測定菌株是否帶有特定基因突變。本方法不僅可應用在石蠟包埋的檢體，冷凍和脫蠟的檢體同樣適用⁽¹⁵⁾。然而，本方法的靈敏度仍有待提升⁽⁴⁾。

除了胃組織外，使用 PCR 來測定糞便中是否存在幽門桿菌具有非常高的靈敏度和專一性⁽⁴⁾。其他像是闌尾發炎的組織、膽汁和慢性鼻竇炎患者的鼻篩骨也曾經被測得幽門桿菌 16S rRNA 的存在⁽⁴⁾。

(2) 微陣列

微陣列 (microarray) 是非常強而有力的工具，最初被發展來監控基因表達，也用來偵測 DNA 序列上的特定突變；後期則應用在偵查和鑑定環境或臨床上的微生物。微陣列可同時偵測數千種微生物，端視探針設計的 16S、23S 和 intergenic transcribed spacers (ITSs) 等 rRNA 基因種類而異；還可用來分析無法培養的微生物。雖然近期使用微生物診斷微陣列 (microbial diagnostic microarrays, MDMs) 逐漸增加，然而應用上仍舊存在許多挑戰，例如探針設計的特異性和敏感度⁽¹⁶⁾。目前已經發展出直接從糞便檢體中偵測 40 種常見人類腸道致病菌的微陣列，包括 *Escherichia coli*、*Vibrio cholerae*、*Vibrio parahaemolyticus*、*Salmonella enterica*、*Campylobacter jejuni*、*Shigella species*、*Yersinia enterocolitica* 和 *Listeria monocytogenes* 等。也有測定分枝桿菌、黴菌、寄生蟲及病毒等微生物的診斷微陣列⁽¹⁷⁾。幽門桿菌的微陣列目前僅用於比較菌株之間基因表現的差異，尚未有診斷微陣列問世。

(3) 拉曼光譜

拉曼光譜 (Raman spectroscopy) 是一種獨特的振動光譜，其可提供分子振動資訊，辨識各種不同的分子，如同分子的指紋分析。拉曼光譜能提供單一細胞內全面性的資訊 (如核酸、蛋白質、碳水化合物和脂肪等)，用於分析哺乳動物細胞、胞器、細菌、酵母菌、病毒和奈米粒子等。依據細胞外膜或細胞壁的生化構造差異，拉曼光譜能有效區分革蘭氏陽性、陰性和酵母菌。此外，對於金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、腸球菌 (*Enterococcus species*) 和酵母菌 (*Candida species*) 等醫學上常見的致病菌，也具有優良的鑑定能力。拉曼光譜甚至還能有效區分對抗生素有抗藥性和非抗藥性菌株⁽¹⁸⁾。即便拉曼光譜已經廣泛應用於微生物領域中，然而，目前尚未有關於鑑定幽門桿菌的研究被報導。預估未來將陸續會有運用拉曼光譜來快速診斷幽門桿菌的研究。

三、結語

幽門桿菌快速診斷的發展乃以不具侵犯性、迅速而有效率的檢測出病原菌。現行偵測的侵入性方法雖然能以影像直接觀察胃內情況，然而，無法避免有胃出血或其他併發症的風險。尿素呼吸試驗和糞便抗原檢測是目前全世界公認較安全又準確的方法。近年來致力於發展的分子診斷方法，雖然僅需少量檢體就能快速且大規模的篩檢，然而，礙於需要特殊設備和操作技術等限制下，發展性仍有待評估。

參考文獻

1. M. M. Gerrits, A. H. van Vliet, E. J. Kuipers, and J. G. Kusters, *Lancet Infect. Dis.*, **6**, 699 (2006).
2. J. H. Tang, N. J. Liu, H. T. Cheng, C. S. Lee, Y. Y. Chu, K. F. Sung, C. H. Lin, Y. K. Tsou, J. M. Lien, and C. L. Cheng, *J. Clin. Gastroenterol.*, **43**, 133 (2009).
3. P. Correa and M. B. Piazuelo, *Dig. Liver Dis.*, **40**, 490 (2008).
4. L. Monteiro, M. Oleastro, P. Lehours, and F. Mégraud, *Helicobacter*, **14** Suppl 1, 8 (2009).
5. S. Yodavudh, S. Tangjitgamol, and S. Puangsa-art, *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, **39**, 659 (2008).
6. B. Marshall, *Clin. Med.*, **2**, 147 (2002).
7. A. Makristathis, A. M. Hirschl, P. Lehours, and F. Mégraud,

Helicobacter, **9** Suppl 1, 7 (2004).

8. R. J. Saad and W. D. Chey, *Gastroenterology*, **133**, 1763 (2007).
9. A. A. Akhiani, *Curr. Opin. Infect. Dis.*, **18**, 223 (2005).
10. A. Leodolter, D. Vaira, F. Bazzoli, K. Schütze, A. Hirschl, F. Mégraud, and P. Malfertheiner, *Aliment Pharmacol. Ther.*, **18**, 927 (2003).
11. H. M. Hu, C. H. Kuo, Y. C. Lo, M. T. Wu, I. C. Wu, C. Y. Lu, Y. C. Su, F. J. Yu, Y. C. Lee, S. R. Lin, C. S. Liu, C. M. Jan, W. M. Wang, and D. C. Wu, *Hepatogastroenterology*, **54**, 119 (2007).
12. D. C. Wu, I. C. Wu, S. W. Wang, C. Y. Lu, H. L. Ke, S. S. Yuan, Y. Y. Wang, W. H. Chang, T. E. Wang, M. J. Bair, and F. C. Kuo, *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **56**, 373 (2006).
13. P. Gill, A. H. Alvandi, H. Abdul-Tehrani, and M. Sadeghizadeh, *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **62**, 119 (2008).
14. S. H. Xuan, Y. G. Zhou, B. Shao, Y. L. Cui, J. Li, H. B. Yin, X. P. Song, H. Cong, F. X. Jing, Q. H. Jin, H. M. Wang, and J. Zhou, *J. Med. Microbiol.*, **58**, 1443 (2009).
15. S. Chen, Y. Li, and C. Yu, *J. Gastroenterol. Hepatol.*, **23**, 126 (2008).
16. T. Kostić, A. Weilharther, S. Rubino, G. Delogu, S. Uzzau, K. Rudi, A. Sessitsch, and L. Bodrossy, *Anal. Biochem.*, **360**, 244 (2007).
17. M. B. Miller and Y. W. Tang, *Clin. Microbiol. Rev.*, **22**, 611 (2009).
18. K. Maquelin, C. Kirschner, L. P. Choo-Smith, N. van den Braak, H. P. Endtz, D. Naumann, and G. J. Puppels, *J. Microbiol. Methods*, **51**, 255 (2002).



洪貴香小姐為國立成功大學基礎醫學博士，現任國立成功大學醫學檢驗生物技術學系博士後研究員。

Kuei-Hsiang Hung received her Ph.D. in basic medical sciences from National Cheng Kung University. She is currently a postdoctoral fellow in the Department of Medical Laboratory Science and Biotechnology at National Cheng Kung University.



吳俊忠先生為美國天普大學微生物暨免疫學博士，現任國立成功大學醫學檢驗生物技術學系教授及國立成功大學醫學院行政副院長。

Jiunn-Jong Wu received his Ph.D. in microbiology and immunology from Temple University, USA. He is currently a professor and the executive vice-dean in the Department of Medical Laboratory Science and Biotechnology at National Cheng Kung University.