来可能用于消化性溃疡的筛查。

总之，血清 PGⅠ和 PGⅡ在消化性溃疡患者显著高于非萎缩性胃炎患者，在非萎缩性胃炎患者显著高于体检人群，因此它们可能用于消化性溃疡和非萎缩性胃炎的辅助诊断或筛查。

参考文献

[1] 杨胜茹. 胃蛋白酶原的研究现状及应用[J]. 医学综述，2009，15(4)：605-607.

[2] 赵芳，赵缜，潘惠芬. 胃蛋白酶原Ⅱ的检测与应用[J]. 国际检验医学杂志，2013，34(19)：2519-2520.

[3] Zhang J, Guo JZ, Xiao HL, et al. Simultaneous detection of different serum pepsinogens and its primary application[J]. World J Gastroenterom, 2010, 16(24): 3072-3077.

[4] Shikata K, Ninomiya T, Yonemoto K, et al. Optimal cutoff value of the serum pepsinogen level for prediction of gastric cancer incidence: the Hisayama Study[J]. Scand J Gastroenterol, 2012, 47(6): 669-675.

[5] Yoshida T, Kato J, Inoue I, et al. Cancer development based on chronic active gastritis and resulting gastric atrophy as assessed by serum levels of pepsinogen and Helicobacter pylori antibody titer [J]. Int J Cancer, 2014, 134(6): 1445-1457.

[6] 潘惠芬，仲宇，赵缜. 胃蛋白酶原检测在浅表性胃炎患者中的临床应用研究[J]. 国际检验医学杂志，2014，35(12)：1560-1561.

[7] 张伟，郑松柏，于晓峰，等. 老年人胃酸和胃蛋白酶研究进展[J]. 中国老年学杂志，2010，30(18)：2717-2719.

[8] Sung JJ, Kuipers EJ, El-Serag HB. Systematic review: the global incidence and prevalence of peptic ulcer disease [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2009, 29(9): 938-946.

[9] Najm WI. Peptic ulcer disease [J]. Prim Care, 2011, 38(3): 383-394.

（收稿日期：2015-12-14）

·临床研究·

电化学发光免疫测定 25-羟基维生素 D_3 在疾病预防控制中心的应用*

李　红，沙怡梅，赵　耀△，施嘉琛

（北京市疾病预防控制中心，北京 100013）

摘　要：目的　在疾病预防控制中心使用电化学发光免疫分析仪测定血清中 25-羟基维生素 D_3。**方法**　使用 E-170 电化学发光免疫分析仪测定 25-羟基维生素 D_3 并与使用酶免检测的数据进行比较。**结果**　E-170 电化学发光免疫分析仪测定 25-羟基维生素 D_3 质控血清检测结果均在 1 个标准差内；与酶免检测数据比较差异有统计学意义（$P<0.05$），相关性差（$r=0.568$）。**结论**　25-羟基维生素 D_3 室内质控结果良好，可以使用 E-170 电化学发光免疫分析仪在疾病预防控制中心开展 25-羟基维生素 D_3 的检测工作，两种方法检测结果差异较大，在进行干预比较性实验时要注意使用的检测方法。

关键词：电化学发光免疫测定；　25-羟基维生素 D_3；　比对实验

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2016.09.039　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2016)09-1247-03

维生素 D 是一种脂溶性维生素，最重要的两个形式是维生素 D_3（胆钙化甾醇）和维生素 D_2（麦角钙化甾醇）[1]。维生素 D 是脂溶性甾体激素前体，其本身并没有生物活性，在体内肝脏和肾脏经过连续两步的羟基化反应过程变成为具有生物活性的 1,25-二羟基维生素 D[2]。检测血清中 25-羟基维生素 D 有 95%以上的为 25-羟基维生素 D_3，当服用维生素 D_2 补充剂时可达到 25-羟基维生素 D_2 检测水平。在人体内循环中的 25-羟基维生素 D 的半衰期为 2～3 周，维生素 D 的水平和人体健康息息相关，与儿童佝偻病、骨质疏松症、帕金森病、心血管疾病、高血压、慢性肾脏病、2 型糖尿病、干燥综合征、过敏性鼻炎、肿瘤等疾病的研究大量被报道[3-12]。观察不同纬度阳光照射、营养状况等因素对人体维生素 D 水平的影响，通过改善生活习惯、饮食结构从而使维生素 D 水平达到正常。在以往的检测工作中酶免方法使用较多，使用 E-170 电化学发光免疫分析仪在疾病预防控制中心开展 25-羟基维生素 D_3 检测。

1　材料与方法

1.1　仪器设备　E-170 电化学发光免疫分析仪，罗氏诊断产品（上海）有限公司。

1.2　试剂、校准品和质控品　E-170 电化学发光免疫分析仪配套使用试剂、标准品和质控品由罗氏诊断产品（上海）有限公司。

1.2.1　试剂-工作溶液　M 链霉亲和素包被的微粒（透明盖）1 瓶，6.5 mL：链霉亲和素包被的微粒 0.72 mg/mL；防腐剂。R1 反应缓冲液（灰色盖）1 瓶，8 mL：醋酸盐缓冲液约 220 mmol/L，pH3.9；清蛋白（人）2 g/L；防腐剂。R2 抗维生素 D_3-Ab～Ru(bpy)$_3^{2+}$，维生素 D 衍生物-生物素（黑色盖）1 瓶，9 mL：钌复合物标记的多克隆抗维生素 D_3 抗体（羊）1.5 mg/L；生物素化的维生素 D，0.15 mg/L；磷酸盐缓冲液 20 mmol/L，pH 6.5；防腐剂。

1.2.2　校准品和质控品　25-羟基维生素 D_3 校准品货号 03314855，4×1 mL。质控品货号 11972227，水平 1 和 2 各有（2×2）mL。

1.2.3　系统附件　系统缓冲液 ProCell M，（2×2）L，货号 04880340。检测池清洗液 CleanCell M，（2×2）L，货号 04880293。货号 03023141，PC/CC-Cups，12 杯，使用前预热 ProCell M 和 CleanCell M。货号 03005712，ProbeWash M，12×70 mL 洗液，用于更换试剂和检测完毕后的冲洗。货号 12102137，48 盒×84 反应器或移液头，废物袋。

1.3　检测原理　25-羟基维生素 D_3 检测试剂盒使用的是抗维生素 D_3 多克隆抗体，采用竞争法，样品总检测时间为 18 min。

*　基金项目：卫生公益性行业科研专项（201202012）。　△　通讯作者，E-mail：zhaoyao@bjcdc.org。

反应过程需要进行两次孵育，首先灰色盖 R1 生物素标记的维生素 D 与血清(35 μL)中的维生素 D_3 发生竞争反应，黑色盖 R2 生物素-维生素 D/钌复合物标记的多克隆特异性维生素 D_3 抗体复合物与该生物素标记的维生素 D 结合。反应体系中免疫复合物的剩余量和样本中分析物的浓度有关。第 2 次孵育是在体系中添加透明盖 M 链霉亲和素包被的微粒后，生物素与链霉亲和素的相互作用使形成的免疫复合体结合到固相。将反应混合物吸入测量池，通过磁性微粒吸附到电极表面。加入 ProCell 系统缓冲液将没有结合物质除去。对电极加压之后产生化学发光，光电倍增器开始测定发光的强度计算样品结果。

1.4　实验方法　将试剂组放入 E-170 分析仪试剂仓(20 ℃)，通过试剂条码仪器自动读取测试具体参数。定标：25-羟基维生素 D_3 试剂组带有一个含有各批号试剂定标具体信息的条码标签，使预定义的主曲线适用于分析仪。质控：检测质控血清水平 1 和 2 进行室内质量控制，质控血清检测结果符合要求后检测标本。计算：根据在分析仪上 2 点定标产生的定标曲线和试剂条码提供的主曲线判定，分析仪自动计算出各样本中被测物浓度(ng/mL 或 nmol/L)。实验检测数据使用 ng/mL 浓度单位。换算因子：nmol/L×0.40＝ng/mL；ng/mL×2.50＝nmol/L。

1.5　统计学处理　采用 SPSS16.0 软件包进行统计学分析，实验数据进行 t 检验，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　E-170 电化学发光免疫分析仪上质控品检测结果　见表 1。

表 1　质控品检测结果(ng/mL)

质控品	检测值	质控品靶值	1 个标准差
水平 1	20.31	20.1	2.21
水平 2	41.24	41.2	4.12

2.2　相关性分析　两种检测方法结果比较差异有统计学意义($P=0.00$，$t=6.885$)，相关性差($r=0.568$)，检测结果见表 2。

表 2　两种方法结果比较($n=256$，ng/mL)

检测方法	$\bar{x}$	s
电化学发光免疫分析	20.47	7.71
酶免	17.94	3.70

3　讨　　论

两个水平的质控品检测结果均在 1 个标准差内，结果良好符合要求。使用前分析仪器会自动对磁性微粒进行再混匀，不同浓度范围的质控品单独测定，至少要在开始测试后每 24 h 一次、每个试剂盒一次和在每次定标后一次。制订实验室的质控间隔和限值，所检测值应在规定的限值内。另外，试剂说明书指出该方法的溯源性，本方法已经过 LC-MS-MS 法标准化，可以使用 E-170 电化学发光免疫分析仪开展 25-羟基维生素 D_3 的检测工作。与酶免检测数据比对结果差别有统计学意义，这与张弘等[13]报道的一致。美国临床实验室标准协会(CLSI)EP9-A2 文件的要求是 $r\geqslant0.975$(或 $r^2\geqslant0.95$)[14]，两种检测方法相关性差($r=0.568$)。目前国内检测维生素 D 的方法并不统一，结果有很大差异[15-19]。在疾病预防控制中心或者妇幼保健院等根据营养状况监测并进行补充改善的工作[20]，在进行干预前后、进行比较性实验时要注意使用的检测方法。

E-170 电化学发光免疫分析仪配套使用试剂 M(透明盖)、R1(灰色盖)、R2(黑色盖)组成 25-羟基维生素 D_3 试剂组，竖直存放于 2～8 ℃冰箱保存，以确保使用前自动混合过程中微粒完全有效。轻拿轻放避免试剂起泡。为了避免因试剂瓶盖过紧在操作时错误报警，在放入试剂仓之前可手工分别把 3 瓶试剂盖轻轻打开再轻轻合上。仪器设备试剂盘内温度为 20 ℃左右，为了保证试剂稳定性检测之前放入，不能长期放在试剂仓内。为了避免运行过程中异常停机，开机之前准备好系统试剂及倒掉废弃物，并且按照医疗废弃物严格处理。

在试剂说明书中还有一些内容需要注意，检测 25-羟基维生素 D_3 标本使用带分离凝胶的血清：在 18～25 ℃稳定 8 h，2～8 ℃能稳定 4 d，－20 ℃可稳定 6 个月。K_3-EDTA 抗凝血浆：18～25 ℃可以稳定 8 h，2～8 ℃稳定 4 d，－20 ℃稳定 6 个月。肝素-锂抗凝血浆：18～25 ℃能稳定 8 h，2～8 ℃稳定 1 d，肝素-锂抗凝的血浆禁止冷冻。试剂检测范围：4～100 ng/mL 或者 10～250 nmol/L。低于检测下限时报告值为小于 4 ng/mL(<10 nmol/L)。超出测量范围上限时报告值为大于 100 ng/mL(>250 nmol/L)，超出测量范围的样本可进行人工稀释后在测定。在开展检测工作之前认真仔细阅读试剂说明书对保证检测结果的准确是很必要的。

参考文献

[1] 荫士安. 维生素 D 与人体健康关系[J]. 医学动物防制，2014，30(10)：1104-1111.

[2] 张秀明，李建斋，魏明竟，等. 现代临床生化检验学[M]. 北京：人民军区出版社，2003：709.

[3] 陈治卿. 维生素阅与人体健康[J]. 中国骨质疏松杂志，2013，19(1)：93-96.

[4] 刘晶，周旭平，罗蔚锋，等. 血清维生素 D 与帕金森病关系的研究进展[J]. 中华神经医学杂志，2015，14(2)：211-214.

[5] 戴晨光，李学奇. 维生素 D 与心血管疾病关系的研究进展[J]. 微循环学杂志，2015，25(1)：62-66.

[6] 张栋武，陈立新，区大刚，等. 维生素 D 与高血压关系的临床研究[J]. 中国基层医药，2015，22(1)：51-53.

[7] 张倩，陈靖. 维生素 D 与慢性肾脏病患者的免疫调节功能[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志，2015，24(2)：156-159.

[8] 王春晓，沈旭慧，王珍. 维生素 D 与 2 型糖尿病的关系[J]. 生理科学进展，2015，46(2)：121-125.

[9] 陈嘉利，蔡玉英. 干燥综合征患者血清维生素 D 的相关性研究[J]. 医学检验与临床，2015，26(2)：18-19.

[10] 吴文奇，梁燕明，林德健. 过敏性鼻炎患者血清维生素 D 水平的临床研究[J]. 广州医药，2015，46(1)：84-85.

[11] 马良，徐延钧，杨建洲，等. 血浆维生素 D 水平与食管鳞癌发生的关系[J]. 中华内科杂志，2015，54(1)：50-51.

[12] 姜烈君，黄华艺. 血清维生素 D 与肿瘤的关系及其检测方法的研究进展[J]. 中国临床新医学，2014，7(10)：986-989.

[13] 张弘，陈善昌. 根据 CLSIEP9A2 评价电化学发光法和酶联免疫法检测 25-羟基维生素 D 的一致性[J]. 广西医科大学学报，2012，29(2)：251-253.

[14] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP9-A2 Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples [S]. Second Edition. Wayne, PA: NCCLS, 2002.

[15] 姜丽，李波，李洋，等. 维生素 D 实验室检测方法研究进展[J]. 国际检验医学杂志，2012，33(17)：2116-2117.
[16] 游春华，熊筱娟，王清华，等. 维生素 D 受体基因的多态性与检测方法[J]. 药学实践杂志，2014，32(5)：329-331.
[17] 曾义. 高效液相色谱-质谱法检测血清中维生素 D 含量[J]. 中国药业，2013，22(20)：17-18.
[18] 程雅婷，董衡，梁晓翠，等. 人血清中 25 羟基维生素 D 测定的两种质谱方法比较[J]. 中华临床医师杂志，2013，7(14)：6535-6542.
[19] 李水军，王思合，周建烈，等. 维生素 D 代谢及 25-羟基维生素 D 测定方法研究进展[J]. 国际检验医学杂志，2012，33(24)：3028-3030.
[20] 孙锦宏，白涛，董进宇. 青春期前儿童维生素 D 营养状况监测及补充对策[J]. 国际检验医学杂志，2015，36(4)：554-555.

（收稿日期：2016-01-22）

·临床研究·

血清 CG 与 TBA 联合检测在 ICP 诊断中的应用

韩保良
（六安市金安区妇幼保健院，安徽六安 237000）

摘　要：目的　探讨血清甘胆酸（CG）与总胆汁酸（TBA）联合检测辅助诊断妊娠期肝内胆汁淤积症（ICP）的临床应用。**方法**　筛选 40 例健康妊娠组及 20 例 ICP 患者（ICP 组），分别检测 CG 与 TBA 水平，两组血清 CG 与 TBA 的检测结果进行比较。**结果**　ICP 组 CG、TBA 水平与健康妊娠组比较差异有统计学意义（$P<0.05$），ICP 组 CG 阳性率为 100%，TBA 阳性率为 60%；健康妊娠组 CG 假阳性率为 7.5%，TBA 假阳性率为 0.0%。**结论**　CG 检测敏感度高，可有效筛选 ICP 患者，TBA 检测特异度高，CG 与 TBA 联合检测可以监测判断 ICP 的严重程度。

关键词：甘胆酸；　总胆汁酸；　妊娠期肝内胆汁淤积症
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2016.09.040　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2016)09-1249-02

妊娠期肝内胆汁淤积症（ICP）是妊娠中、晚期特有的一种并发症，以孕妇出现黄疸及皮肤瘙痒为主要症状。ICP 患者预后良好，主要危及胎儿[1]，可导致宫内窘迫、早产、围生期胎儿死亡及产后出血，被列为高危妊娠。临床 ICP 的诊断与治疗主要依据临床表现与生物化学指标。金安区妇幼保健院采用孕妇外周血清甘胆酸（CG）与总胆汁酸（TBA）联合检测来辅助诊断 ICP，本文对 CG 与 TBA 联合检测在 ICP 诊断与治疗中的应用进行评估，现报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　选取 2015 年 6～10 月在金安区妇幼保健院进行孕期体检的孕妇，其中筛选标准为无肝功能损害、皮肤瘙痒与黄疸症状，共筛选 40 例健康妊娠组，年龄 19～34 岁，孕龄 28～35 周。另外选取同期来本院就诊的 ICP 患者 20 例（ICP 组），其选取标准参照《妊娠期肝内胆汁淤积症诊疗指南（第 1 版）》[2]，年龄 21～40 岁，孕龄 27～39 周；妊娠前无肝胆及皮肤疾病，妊娠中晚期出现程度不同的局部与全身瘙痒症状，无合并黄疸和肝功能损害；无其他妊娠并发症。

1.2　方法　清晨空腹采静脉血 3.0 mL，及时检测 CG 与 TBA。TBA 测定使用美国产贝克曼 DXC800 型全自动生化分析仪；检测试剂与标准品由复星长征公司提供，质控品由安徽省临床检验中心统一购买。实验操作严格按照 SOP 文件进行，CG 测定使用科大创新中佳分公司 GC-911 型 γ-放射免疫计数器，试剂与标准品、质控品均由天津九鼎医学生物工程有限公司提供。TBA 测定采用循环酶法，参考范围 0～10 μmol/L，CG 测定采用放射免疫法，参考范围 0.0～3.6 μg/mL。

1.3　统计学处理　采用 SPSS17.0 统计软件，计量资料数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示，组间采用 t 检验进行统计学处理，CG 测定值超过线性范围时以最高值 50 μg/mL 参与统计，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　健康妊娠组血清 CG 水平为（2.24±0.95）μg/mL，ICP 组血清 CG 水平为（29.30±18.47）μg/mL。健康妊娠组 20 例样本中有 3 例假阳性，假阳性率 7.5%；ICP 组 CG 值明显高于参考值，阳性率为 100.0%，与健康妊娠组 CG 值比较差异有统计学意义（$P<0.05$）。

2.2　健康妊娠组血 TBA 水平为（2.05±1.13）μmol/L，ICP 血清 TBA 水平为（20.38±18.33）μmol/L，健康妊娠组中 TBA 值无一例升高；ICP 组 TBA 值高于参考值 12 例，阳性率为 60%，与健康妊娠组 TBA 值比较差异有统计学意义（$P<0.05$）。见表 1。

表 1　健康妊娠组与 ICP 组 CG 与 TBA 检测结果比较

组别	n	CG(μg/mL)	TBA(μmol/L)
健康妊娠组	40	2.24±0.95	2.05±1.13
ICP 组	20	29.30±18.47	20.38±18.33

3　讨　　论

ICP 通常发病于妊娠晚期（孕 30 周以后），目前尚无一种药物能够预防 ICP。通常认为 ICP 的发病机制与激素、遗传及环境因素有关：在妊娠期间由于胎盘合成和分泌大量雌激素和孕激素及代谢负荷增大导致母体肝胆系统发生变化，雌激素与肝细胞表面受体结合后干扰细胞膜表面胆固醇与磷脂的比例，膜物质转运功能变化导致胆汁排泄受阻，同时胆汁回流增加；增高的雌激素可以抑制部分酶的活性导致胆汁酸代谢障碍；孕激素可降低平滑肌张力，胆囊对胆汁酸的储存与排空能力下降可使胆汁不同程度淤积。目前我国无确切的 ICP 流行病学资料，根据各类文献报道其发生有明显的地域、环境和种族差异，说明遗传和环境因素也是发病原因之一[3]。ICP 患者母体血液