

## 三种方法检测胃蛋白酶原 I 的比较及临床应用\*

廉伟<sup>a</sup>, 赵缜<sup>b</sup>, 赵芳<sup>b</sup>, 潘惠芬<sup>b</sup> (上海瑞金医院集团闵行医院 a. 消化科; b. 检验科, 上海 201199)

**摘要:**目的 探讨时间分辨荧光法(TRFIA)、化学发光免疫分析法(CLIA)和酶联免疫吸附法(ELISA)检测胃蛋白酶原 I (PG I) 的相关性, 及其临床实用性。方法 在 TRFIA 法检测的临床标本中随机选择 88 份, 分别用 CLIA 法和 ELISA 法再次检测 PG I, 分析三种方法检测结果的相关性; 对体检人群、消化科门诊患者和住院患者进行回顾性分析, 验证 TRFIA 法检测 PG I 对胃病筛查的可行性。结果 TRFIA 法(Y)与 CLIA 法(X), ELISA 法(X) PG I 检测结果均呈显著正相关( $r$  分别为 0.992 8 和 0.995 0,  $P < 0.05$ ), 三种方法检测结果的相对偏差(SE%)均  $< 10\%$ ; 体检人群、消化科门诊患者、消化科住院患者的血清 PG I 水平分别为  $156.0 \pm 63.8$  ng/ml,  $197.8 \pm 113.8$  ng/ml,  $269.5 \pm 156.5$  ng/ml, 三者差异具有统计学显著性意义( $P < 0.05$ )。结论 TRFIA 法检测 PG I 结果可靠、操作方便, 未来可能用于胃病患者的筛查或辅助诊断。

**关键词:**胃蛋白酶原 I; 时间分辨荧光法; 酶联免疫吸附法

**中图分类号:**R446.112 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2014)01-132-04

**doi:**10.3969/j.issn.1671-7414.2014.01.047

### Detection of Pepsinogen I by Three Different Methods and Its Clinical Application

LIAN Wei<sup>a</sup>, ZHAO Zhen<sup>b</sup>, ZHAO Fang<sup>b</sup>, PAN Hui-fen<sup>b</sup> (a. Department of Gastroenterology; b. Department of Clinical Laboratory, Minghang Central Hospital of Shanghai Ruijin Hospital Group, Shanghai 201199, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the correlation of three pepsinogen I (PG I) detection methods and its clinical applications. **Methods** 88 serum samples were randomly selected, and PG I was detected by using time-resolved fluoroimmunoassay (TRFIA), chemiluminescence immunoassay (CLIA) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), respectively. Then, their results were processed using regression and correlation analysis. To verify the feasibility of gastric disease screening by PG I detection, 3 575 people were divided into three groups: gastroenterology outpatients, gastroenterology hospitalized patients, and physical examination population. **Results** It showed a significant positive correlation between any two of the three methods ( $P < 0.05$ ), and the detection values of the medical decision concentration by the three methods have good correlativity, and can be converted to each other. PG I serum levels were  $156.0 \pm 63.8$  ng/ml,  $197.8 \pm 113.8$  ng/ml, and  $269.5 \pm 156.5$  ng/ml in outpatients, hospitalized patients, and physical examination population, respectively. There was significantly different between the three groups ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** PG I detection by TRFIA is simple and effective method. It may be used for the screening or auxiliary diagnosis of gastric disease in the future.

**Keywords:** pepsinogen I; time-resolved fluoroimmunoassay; enzyme-linked immunosorbent assay

胃蛋白酶原 I (pepsinogen I, PG I) 主要由胃底腺主细胞和黏液颈细胞合成, 然后进入胃腔转化为有消化活性的胃蛋白酶<sup>[1,2]</sup>。其中, 约 1% PG I 可通过血管黏膜进入血液循环。当胃黏膜发生病理变化(如炎症、溃疡、糜烂等)时, 胃壁中的血管黏膜通透性增加, 血液 PG I 含量也随之发生改变, 因此血液 PG I 水平可以反映胃黏膜的结构和功能<sup>[2,3]</sup>。目前, 血清 PG I 常用检测方法包括时间分辨荧光法(TRFIA)、化学发光法(CMIA)、酶联免疫吸附法(ELISA), 为了验证三种方法 PG I 检测结果的可比性, 本研究对 88 份临床标本同时

用三种方法检测, 并进行了统计学分析与比较, 现报道如下。

#### 1 材料与方法

1.1 材料 2012 年 1 月~10 月, 我院检验科共检测 PG I 标本 3 575 份 (TRFIA 法), 从中抽取血清标本 88 份 (低值 33 份, 中值 23 份, 高值 32 份), 分别用 CLIA 法和 ELISA 法再次检测 PG I, 并进行相关与回归分析。同时用 TRFIA 检测试剂盒中的定标液配制医学决定水平浓度, 包括 30, 60 和 240 ng/ml, 分别用三种方法检测 PG I, 验证其差异的可接受性。另外, 根据体检、消化科门诊、消化

\* 基金项目: 上海市科委(10411950800)。

作者简介: 廉伟(1968—), 女, 本科, 主任医师, 主要从事消化系统疾病的诊断和治疗研究, Tel: 18918169313, E-mail: drlianwei@126.com。

通讯作者: 赵缜(1972—), 男, 博士, 副主任技师, 主要从事免疫学和分子生物学检测的研究, E-mail: zhaozhen72@126.com。

科住院把上述人群分为三组,比较PG I检测结果的差异。

1.2 方法 PG I TRFIA法检测试剂盒购自上海谐诚医疗器械有限公司,由江苏省原子医学研究所生产;PG I CLIA法检测试剂盒由雅培(上海)有限公司提供;PG I ELISA法检测试剂盒购自上海艾柯特医疗产品有限公司,由芬兰百得股份公司生产。均严格按照说明书操作。

1.3 检测原理 TRFIA法:同黄彪等<sup>[4]</sup>报道。CLIA法:把样品、稀释液和包被了抗人PG I抗体的顺性磁微粒混合,样品中的PG I与包被在微粒上的抗人PG I抗体结合,冲洗后,添加吡啶酯标记的抗人PG I抗体,再次冲洗后,添加预激发液和激发液,产生化学发光反应,发光强度与PG I含量呈正比。ELISA法:同程清<sup>[5]</sup>的报道。

1.4 统计学分析 资料均采用SAS6.12软件包分析,不同方法PG I检测结果采用双变量相关分析和简单线性回归分析,不同人群PG I检测结果比较采用成组设计资料的t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TRFIA法与CMIA法PG I检测结果的相关性 TRFIA法(Y)与CLIA法(X)PG I检测结果呈显著正相关( $r=0.9863, P=0.0001$ ),直线回归方程为: $Y=2.6522X+7.3472 (P=0.0001)$ ,见图1。图中可见X轴上PG I  $> 110$  ng/ml的8个点有明显的离散倾向,如果剔除这8个点,两种方法PG I检测结果的相关系数为 $r=0.9928 (P=0.0001)$ ,直线回归方程为: $Y=2.8804X+2.0732 (P=0.0001)$ 。

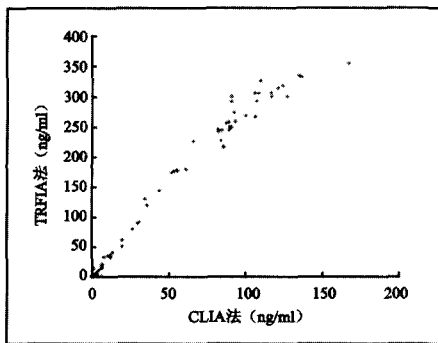


图1 TRFIA法与CMIA法PG I检测结果的相关性

2.2 TRFIA法与ELISA法PG I检测结果的相关性 TRFIA法(Y)与ELISA法(X)PG I检测结果呈显著正相关( $r=0.9950, P=0.0001$ ),直线回归方程为: $Y=1.5710X-3.6268 (P=0.0001)$ ,见图2。

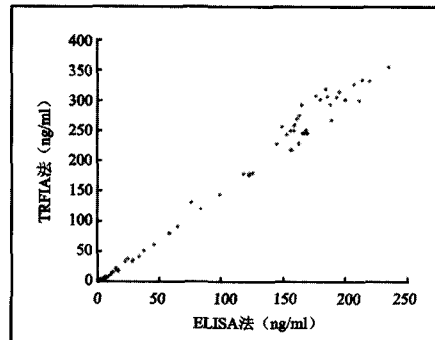


图2 TRFIA法与ELISA法PG I检测结果的相关性

2.3 ELISA法与CLIA法PG I检测结果的相关性 ELISA法(Y)与CLIA法(X)PG I检测结果呈显著正相关( $r=0.9861, P=0.0001$ ),直线回归方程为: $Y=1.6795X+7.3887 (P=0.0001)$ ,见图3。图中可见X轴上PG I  $> 110$  ng/ml的8个点有明显的离散倾向,如果除去这8个点,两种方法PG I检测结果的相关系数 $r=0.9924 (P=0.0001)$ ,直线回归方程为: $Y=1.8250X+4.1162 (P=0.0001)$ 。

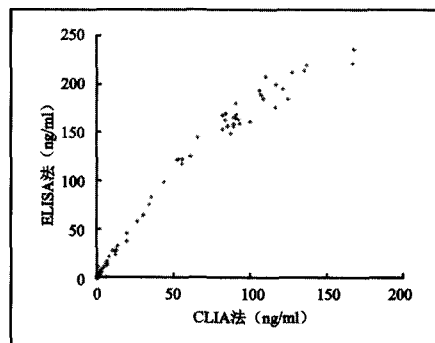


图3 ELISA法与CLIA法PG I检测结果的相关性

2.4 三种方法PG I检测结果的临床可接受性 计算三种方法的系统误差,因三种方法的相关系数均满足 $r \geq 0.975$ 或 $r^2 \geq 0.95$ ,所以直接把PG I的医学决定水平浓度 $X_c$ 代入回归方程<sup>[6]</sup>,计算TRFIA法,CLIA法和ELISA法检测结果与真值的相对偏差(SE%),见表1。

表1 三种方法PG I检测结果的临床可接受性评价

浓度(ng/ml)	TRFIA法		CLIA法(校正前)			CLIA法(校正后)			ELISA法		
	测定值	SE%	测定值	计算值	SE%	测定值	计算值	SE%	测定值	计算值	SE%
30	30.5	1.7	9.8	33.3	11.0	9.8	30.3	1.0	22.7	32.0	6.7
60	63.5	5.8	21.0	63.3	5.5	21.0	62.8	4.7	43.4	64.6	7.6
240	239.4	0.3	81.6	223.8	6.8	81.6	237.1	1.2	161.4	249.9	4.1

2.5 回顾性分析 3 575 份血清标本中体检者 2 052 人,消化科门诊患者 593 人,消化科住院患者 922 人,其他 8 人;其血清 PG I 水平分别为  $156.0 \pm 63.8$ ,  $197.8 \pm 113.8$  和  $269.5 \pm 156.5$  ng/ml,消化科门诊患者血清 PG I 水平显著高于体检人群 ( $P < 0.05$ ),消化科住院患者血清 PG I 水平显著高于消化科门诊患者 ( $P < 0.05$ ),见表 2。

表 2 体检人群、消化科门诊患者、消化科病房患者血清 PG I 水平的差异

组别	n	男/女	年龄	PGI(ng/ml)	t	P
体检人群	2 052	1 234/818	45.4±12.9	156.0±63.8		
消化科门诊	593	239/354	57.7±11.1	197.8±113.8	11.536	0.000 0*
消化科病房	922	544/378	61.5±16.1	269.5±156.5	9.635	0.000 0#

注: \* 消化科门诊患者与正常体检者血清 PG I 水平的比较; # 消化科病房患者与消化科门诊患者血清 PG I 水平的比较。

3 讨论 多年来,血清 PG I 检测已经用于萎缩性胃炎和胃癌高危人群的筛查,因此探索一种简单、敏感、稳定的 PG I 检测方法非常重要。PG I 早期检测方法主要为放射免疫分析法 (RIA) 和 ELISA 法,其中 RIA 法具有放射性危害,稳定性较差(效期数周至数月)等不足,而 ELISA 法敏感性偏低<sup>[7,8]</sup>。为了满足临床需求,PG I TRFIA 检测法和 CLIA 检测法慢慢在国内普及,TRFIA 检测法是用化学发光剂“铋”取代酶和放射性元素作为标记物,铋比背景荧光具有更长的半寿期,因此大大的提高了信噪比,避免了背景荧光的污染,而且铋对标记蛋白的生物活性影响较小,能有效保持其特异性和稳定性<sup>[7]</sup>。Huang 等<sup>[8]</sup> 研究发现,与 RIA 法比较,PG I TRFIA 检测法具有高度敏感性和特异性、线性范围宽、无放射性污染、操作简单等优点。CLIA 检测法用吡啶酯作为标记物,具有结果准确、自动化操作等优点。为了探讨上述方法检测结果的可靠性,本研究对 TRFIA, CLIA 和 ELISA 三种方法进行了比较,结果发现三种方法两两之间均具有良好的相关性 ( $r > 0.975$ )。为了验证三种方法 PG I 检测结果的可比性,即其系统误差是否在临床可接受范围,我们把 PG I 给定的医学决定水平浓度  $X_c$  代入回归方程,计算三个检测方法检测结果的相对偏差 (SE%)。以美国临床实验室改进修正法案 (CLIA'88) 对室间评估的允许误差为判断依据,如  $SE\% \leq 1/2$  允许误差,则属临床可接受水平,即不同方法间的测定结果具有可比性<sup>[6]</sup>。不过,目前 PG I 尚未明确允许误差范围,如果以  $T \pm 20\%$  为标准,则 TRFIA 法,ELISA 法

PG I 检测相对偏差均小于 10%,因此具有可比性。不过 CLIA 法虽然与另外两种方法也具有良好相关性,但是当 PG I  $> 110$  ng/ml 时,有明显的离散倾向,而且部分结果相对偏差大于 10%,在剔除这些高值数据(校正)后,其系统误差也回归到可接受范围。

PG I 几乎全部在胃黏膜合成,当胃黏膜发生萎缩时,胃体腺和胃底腺数量减少或被幽门腺所取代,导致 PG I 水平下降。不过,部分 PG I 在胃黏膜合成后,可以通过血管壁渗入血液,当黏膜发生炎症、糜烂、溃疡时,血管壁通透性增加,血液 PG I 水平升高<sup>[2,3]</sup>。Huang 等<sup>[8]</sup> 发现尽管 PG I 在严重胃溃疡和胃癌患者明显下降,但是有些早期胃癌患者 PG I 维持在正常水平或者出现升高。同时,他们也发现 PG I 在胃十二指肠溃疡患者显著升高,因此推荐 PG I 作为胃病的筛查手段。为了验证这个推论,本研究对 3 575 人(包括体检人群、消化科门诊患者和消化科住院患者)进行了回顾性分析,结果发现消化科门诊患者血清 PG I 水平显著高于体检人群 ( $P < 0.05$ ),而消化科住院患者血清 PG I 水平又显著高于消化科门诊患者 ( $P < 0.05$ )。通过病史查询发现,消化科门诊患者以浅表性胃炎为主 ( $> 50\%$ ),其次是胃十二指肠溃疡 (约 10%);而消化科住院患者以胃十二指肠糜烂或溃疡为主 (63%),其次是浅表性胃炎 (25%),而萎缩性胃炎或胃癌较少 (9%)。可见,PG I 升高有可能作为浅表性胃炎、胃十二指肠糜烂或溃疡的筛查指标之一,当然其参考值的确定还需要大量的临床实验来解决。

综上所述,TRFIA 法检测 PG I 结果可靠,操作方便,未来可能对浅表性胃炎和胃十二指肠糜烂/溃疡的筛查和诊断具有重要参考价值。

#### 参考文献:

- [1] Di Mario F, Cavallaro LG. Non-invasive tests in gastric diseases[J]. Dig Liver Dis, 2008, 40(7): 523-530.
- [2] Correa P. Serum pepsinogens in gastric cancer screening[J]. Dig Dis Sci, 2010, 55(8): 2123-2125.
- [3] 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.  
Yang SR. Pepsinogen research and application[J]. Medical Recapitulate, 2009, 15(4): 605-607.
- [4] 黄 飏, 肖华龙, 张祥瑞, 等. 胃蛋白酶原 I 时间分辨荧光免疫分析法的建立[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2004, 24(6): 492-495.  
Huang B, Xiao HL, Zhang XR, et al. Time-resolved fluoroimmunoassay of pepsinogen[J]. Chin J Microbiol Immunol, 2004, 24(6): 492-495.
- [5] 程 清. 血清胃蛋白酶原对胃癌早期诊断的意义[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(1): 67-69, 73.  
Cheng Q. Significance of serum pepsinogen in early

diagnosis of gastric cancer[J]. J Mod Lab Med, 2013, 28(1):67-69, 73.

- [6] 张秀明, 庄俊华, 徐宁, 等. 不同检测系统4种心肌酶测定结果的对比与临床可接受性评价[J]. 临床检验杂志, 2005, 23(6):404-406.  
Zhang XM, Zhuang JH, Xu N, et al. Detection of myocardial enzymes by four different methods and its clinical application[J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2005, 23(6):404-406.

- [7] Zhang J, Guo JZ, Xiao HL, et al. Simultaneous detection of different serum pepsinogens and its primary application[J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(24):3072-3077.  
[8] Huang B, Xiao H, Zhang X, et al. Ultrasensitive detection of pepsinogen I and pepsinogen II by a time-resolved fluoroimmunoassay and its preliminary clinical applications[J]. Anal Chim Acta, 2006, 571(1):74-78

收稿日期:2013-03-22

修回日期:2014-01-15

(上接131页)革兰阴性菌比例 采集住院患者粪便标本200份, 123份标本筛查出产ESBLs革兰阴性菌, 住院患者粪便中产ESBLs革兰阴性菌比例为61.50%; 其中大肠埃希菌116份, 占94.31%, 肺炎克雷伯菌6份, 占4.88%, 大肠埃希菌+肺炎克雷伯菌1份, 占0.81%, 此混合细菌病例为儿童患者。

2.2 住院患者粪便中产ESBLs革兰阴性菌与年龄的关系 200份标本中, 成人标本156份, 产ESBLs革兰阴性菌94份, 阳性率60.26%; 儿童标本44份, 产ESBLs革兰阴性菌29份, 阳性率65.91%, 阳性率儿童略高于成人, 经 $\chi^2$ 检验,  $\chi^2 = 0.1082$ ,  $P > 0.05$  差异无统计学显著性意义。

2.3 住院患者粪便中产ESBLs革兰阴性菌与性别的关系 200份标本中, 男性标本78份, 产ESBLs革兰阴性菌50份, 阳性率64.10%; 女性标本122份, 产ESBLs革兰阴性菌73份, 阳性率59.84%, 阳性率男性略高于女性, 经 $\chi^2$ 检验,  $\chi^2 = 0.0865$ ,  $P > 0.05$  差异无统计学显著性意义。

### 3 讨论

3.1 结果显示住院患者粪便中产ESBLs革兰阴性菌比例高, 高达61.50%, 高于文献<sup>[2]</sup>报道的粪便标本分离产ESBLs大肠埃希菌阳性率39.20%, 这可能与检测方法、标本来源不完全相同有一定关系, 也与快速检测方法特异度高、灵敏度有关<sup>[3]</sup>。与本院肛拭子筛查阳性率30.1%相比, 粪便阳性率高于肛拭子一倍左右。住院患者粪便中产ESBLs革兰阴性菌比例高, 可能与本院 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物使用率高有一定关系, 根据本院抗菌药物使用种类统计 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物使用占第一位, 比例达90%。123株ESBLs阳性中大肠埃希菌116株, 占94.31%, 肺炎克雷伯菌6株, 占4.88%, 1例儿童患者1岁, 在门诊口服3天头孢菌素类抗菌药物, 入院后静脉注射头孢替唑1天后, 粪便同时分离出产ESBLs大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌。粪便中产ESBLs革兰阴性菌比例高应引起医院和社会的广泛关注, 加强抗菌药物合理使用的管理, 降低肠道细菌的耐药率, 医院应加强消

毒隔离管理工作, 减少产ESBLs革兰阴性菌引起的医院感染, 同时应做好废弃物的运送管理, 减少粪便中多重耐药菌对环境的污染。

3.2 结果显示住院患者粪便中产ESBLs革兰阴性菌与年龄关系不大, 住院患者中儿童主要以呼吸、消化系统感染性疾病为主, 抗菌药物使用率高, 以 $\beta$ -内酰胺类抗菌药物使用为主, 在抗菌药物的压力下细菌容易产生 $\beta$ -内酰胺酶, ESBLs的编码基因由质粒介导, 易在同种属甚至不同种属细菌间传递, 导致住院患儿粪便中大肠埃希菌产生ESBLs。此次调查中, 儿童与成人粪便中产ESBLs革兰阴性菌比例都高, 与年龄关系不大, 统计学上差异无显著性意义; 住院患者粪便中产ESBLs革兰阴性菌与性别关系不大, 统计学上差异无显著性意义。

粪便中产ESBLs革兰阴性菌比例高, 应引起医院和社会的广泛关注, 加强抗菌药物管理, 合理使用抗菌药物, 减少粪便中产ESBLs革兰阴性菌的比例, 制定严格的消毒隔离措施, 减少产ESBLs革兰阴性菌导致的医院感染和环境污染。

### 参考文献:

- [1] 林金兰, 李六亿. 多重耐药菌医院感染的现状及研究进展[J]. 中国护理管理, 2010, 10(12):76-78.  
Lin JL, Li LY. Current situation and research progress of multiple drug-resistant bacteria nosocomial infection of[J]. Chinese nursing management, 2010, 10(12):76-78.  
[2] 乔登娟, 强桂芳, 赵晓英, 等. 正常粪便中大肠埃希菌产超广谱 $\beta$ -内酰胺酶及耐药性调查[J]. 国际医学检验杂志, 2011, 32(12):1377-1378.  
Qiao DY, Qiang GF, Zhao XY, et al. Normal fecal *Escherichia coli* producing extended spectrum beta lactamases and antibiotic resistance in[J]. International Journal Laboratory Medical, 2011, 32(12):1377-1378.  
[3] 梁小英, 王莉宇. VITEK-32全自动细菌分析系统检验超广谱 $\beta$ -内酰胺酶结果的评价[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(21):2645-2646.  
Liang XY, Wang LY. VITEK-32 automatic bacterial analyzing system test ESBLs results for the evaluation of[J]. Laboratory Medicine Clinical, 2011, 8(21):2645-2646.

收稿日期:2013-03-01

修回日期:2013-10-25