三种方法检测胃蛋白酶原Ⅰ的比较及临床应用*

廉 伟[a],赵 缜[b],赵 芳[b],潘惠芬[b] (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(PGⅠ)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PGⅠ,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PGⅠ对胃病筛查的可行性。**结果** TRFIA法(Y)与CLIA法(X),ELISA法(X)PGⅠ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PGⅠ水平分别为156.0±63.8 ng/ml,197.8±113.8 ng/ml,269.5±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PGⅠ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[a], ZHAO Zhen[b], ZHAO Fang[b], PAN Hui-fen[b] (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±63.8 ng/ml, 197.8±113.8 ng/ml, and 269.5±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,PGⅠ)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[1,2]。其中,约1%PGⅠ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PGⅠ含量也随之发生改变,因此血液PGⅠ水平可以反映胃黏膜的结构和功能[2,3]。目前,血清PGⅠ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PGⅠ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PGⅠ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PGⅠ,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成医学决定水平浓度,包括30,60和240 ng/ml,分别用三种方法检测PGⅠ,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PGⅠ检测结果的差异。

1.2 方法 PGⅠTRFIA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；PGⅠCLIA法检测试剂盒由雅培(上海)有限公司提供；PGⅠELISA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[4]报道。CLIA法：把样品、稀释液和包被了抗人PGⅠ抗体的顺性磁微粒混合，样品中的PGⅠ与包被在微粒上的抗人PGⅠ抗体结合，冲洗后，添加吖啶酯标记的抗人PGⅠ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PGⅠ含量呈正比。ELISA法：同程清[5]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PGⅠ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PGⅠ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PGⅠ检测结果的相关性 TRFIA法(Y)与CLIA法(X)PGⅠ检测结果呈显著正相关($r=0.986\ 3$，$P=0.000\ 1$)，直线回归方程为：$Y=2.652\ 2X+7.347\ 2$($P=0.000\ 1$)，见图1。图中可见X轴上PGⅠ>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PGⅠ检测结果的相关系数为$r=0.992\ 8$($P=0.000\ 1$)，直线回归方程为：$Y=2.880\ 4X+2.073\ 2$($P=0.000\ 1$)。

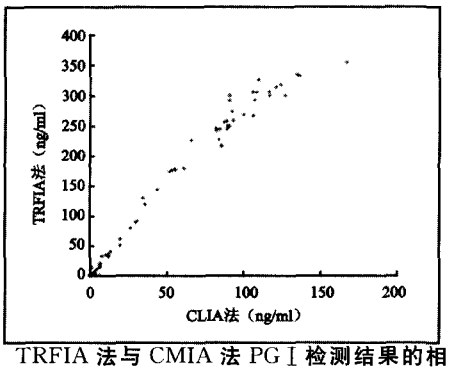

图1 TRFIA法与CMIA法PGⅠ检测结果的相关性

2.2 TRFIA法与ELISA法PGⅠ检测结果的相关性 TRFIA法(Y)与ELISA法(X)PGⅠ检测结果呈显著正相关($r=0.995\ 0$，$P=0.000\ 1$)，直线回归方程为：$Y=1.571\ 0X-3.626\ 8$($P=0.000\ 1$)，见图2。

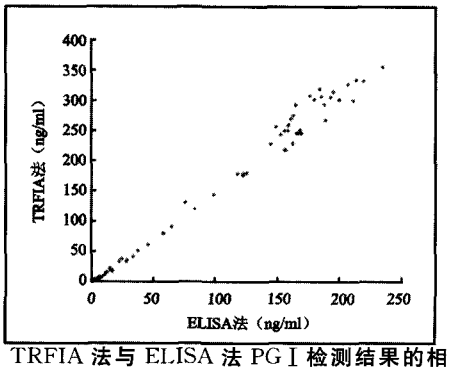

图2 TRFIA法与ELISA法PGⅠ检测结果的相关性

2.3 ELISA法与CLIA法PGⅠ检测结果的相关性 ELISA法(Y)与CLIA法(X)PGⅠ检测结果呈显著正相关($r=0.986\ 1$，$P=0.000\ 1$)，直线回归方程为：$Y=1.679\ 5X+7.388\ 7$($P=0.000\ 1$)，见图3。图中可见X轴上PGⅠ>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PGⅠ检测结果的相关系数$r=0.992\ 4$($P=0.000\ 1$)，直线回归方程为：$Y=1.825\ 0X+4.116\ 2$($P=0.000\ 1$)。

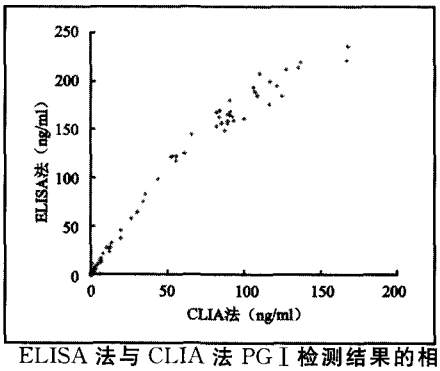

图3 ELISA法与CLIA法PGⅠ检测结果的相关性

2.4 三种方法PGⅠ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$r\geqslant0.975$或$r^2\geqslant0.95$，所以直接把PGⅠ的医学决定水平浓度Xc代入回归方程[6]，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PGⅠ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PGⅠ水平分别为156.0±63.8，197.8±113.8和269.5±156.5 ng/ml，消化科门诊患者血清PGⅠ水平显著高于体检人群（$P<0.05$），消化科住院患者血清PGⅠ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PGⅠ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	0.000 0*
消化科病房	922	544/378	61.5±16.1	269.5±156.5	9.635 1	0.000 0#

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

3 讨论 多年来，血清PGⅠ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PGⅠ检测方法非常重要。PGⅠ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[7,8]。为了满足临床需求，PGⅠTRFIA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"铕"取代酶和放射性元素作为标记物，铕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，而且铕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[7]。Huang等[8]研究发现，与RIA法比较，PGⅠTRFIA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检测法用吖啶酯作为标记物，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PGⅠ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PGⅠ给定的医学决定水平浓度Xc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%≤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[6]。不过，目前PGⅠ尚未明确允许误差范围，如果以T±20%为标准，则TRFIA法，ELISA法PGⅠ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PGⅠ>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。

PGⅠ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PGⅠ水平下降。不过，部分PGⅠ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PGⅠ水平升高[2,3]。Huang等[8]发现尽管PGⅠ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PGⅠ维持在正常水平或者出现升高。同时，他们也发现PGⅠ在胃十二指肠溃疡患者显著升高，因此推荐PGⅠ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PGⅠ水平显著高于体检人群（$P<0.05$），而消化科住院患者血清PGⅠ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，PGⅠ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PGⅠ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]. Me-dical Recapitulate, 2009, 15(4): 605-607.

[4] 黄 飚, 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比对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χ^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χ^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[2]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强、灵敏度高有关[3]。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β-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β-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β-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β-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] 乔登嫣,强桂芳,赵晓英,等.正常粪便中大肠埃希菌产超广谱β-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β-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