

- [7] Harada T, Kubota T, Aso T. Usefulness of CA19-9 versus CA125 for the diagnosis of endometriosis. *Fertil Steril*, 2002, 78(4): 733-739.
- [8] 刘爱民. 血清 CA125 和 CA19-9 水平对子宫内膜异位症诊断价值的探讨. *放射免疫学杂志*, 2008, 21(1): 11-13.
- [9] 丰有吉, 沈铿. 妇产科学. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 3.
- [10] Gracia CR, Barnhart KT. Diagnosing ectopic pregnancy: decision analysis comparing six strategies. *Obstet Gynecol*, 2001, 97(3): 464-470.
- [11] Janka G, Zur Stadt U. Familial and acquired hemophagocytic lymphohistocytosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2005: 82-88.
- [12] 谭丽霞. β -HCG、CA125 联合监测在异位妊娠保守治疗中的价值. *疑难病杂志*, 2007, 6(8): 492-493.
- [13] 孙祥秀, 徐永萍. 抗子宫内膜抗体对大鼠不孕及自然流产的影响. *生殖与避孕*, 2007, 27(4): 255-259.
- [14] Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril*, 2001, 75(1): 1-10.
- [15] 黄晓英, 曾传蓉. Ca125 和 EMAB 联合检测在腺肌病与子宫肌瘤鉴别诊断中的应用. *检验医学与临床*, 2008, 5(6): 353-354.
- [16] Chattopadhyay S, Chakraborty NG, Mukherji B. Regulatory T cells and tumor immunity. *Cancer Immunol Immunother*, 2005, 54(12): 1153-1161.
- [17] 张顺斌. 血清 CA125 和 TGF- β 1 检测对子宫内膜异位症诊断价值的探讨. *放射免疫学杂志*, 2008, 21(2): 173-174.

(收稿日期: 2008-11-24)

25-羟维生素 D 参考区间的建立及其临床意义

陈建波 黄献忠 胡朝晖 祖玉丽 朱庆义

【摘要】目的 建立区域人群 25-羟维生素 D (25-OH-Vit D) 的参考区间, 并对用于临床评估提出建议。**方法** 收集 204 例健康参考个体的样本, 用放射免疫法进行检测, 对检测结果进行离群点检查、绘制数据分布图, 统计分析 25-OH-Vit D 的检测结果, 对参考区间进行验证和建立。**结果** 建立的 25-OH-Vit D 参考区间青少年为 16.0~39.7 ng/ml, 成年人为 11.7~40.0 ng/ml。**结论** 25-OH-Vit D 在人体水平因各个地区人群的年龄、性别、生活习惯等的差异而有所不同。国内区域人群维生素 D 的摄入量可能整体偏低, 故临床医生在评估维生素 D 状态时, 应考虑人体所应有的足够量的 25-OH-Vit D。

【关键词】放射免疫测定; 参考值; 25-羟维生素 D

Establishment of 25-OH-vitamin D reference interval by radioimmunoassay and its clinical significance

CHEN Jian-bo, HUANG Xian-zhong, HU Chao-hui, ZU Yu-li, ZHU Qing-yi

(Guangzhou Kingmed Center for Clinical Laboratory Company Limited, Guangzhou 510330, China)

【Abstract】 Objective To establish reference interval of 25-OH-vitamin D (25-OH-Vit D) by radioimmunoassay and provide suggestion for clinical applications. **Method** Collecting 204 healthy persons specimens, and validating and establishing reference interval of 25-OH-Vit D by treatment of outlying observations, judgement of data distributions and analysis of test results. **Results** The reference interval of 25-OH-Vit D established in our laboratory is 16.0~39.7 ng/ml for adolescents and 11.7~40.0 ng/ml for adults. **Conclusions** The levels of 25-OH-Vit D in humans depend on their age, sex and life style. Some people's vitamin D intake is not enough. Doctors should pay attention to the sufficient 25-OH-Vit D needed when evaluate vitamin D intake.

【Key words】 Radioimmunoassay; Reference values; 25-OH-Vit D

维生素 D 与人类健康密切相关。近来, 人们对维生素 D 的认识更进一步深入, 特别是对“低

维生素 D 水平增加心血管疾病的风险”的认识^[1], 引起了广泛重视。临床医生不仅仅将维生素 D 当成营养物质, 也越来越重视通过检测维生素 D 在体内的水平来评估心血管疾病的风险, 实验室对维生素 D 在体内的代谢物 25-羟维生素 D (25-

hydroxyvitamin D, 25-OH-Vit D) 的检测逐步得到推广, 并已显示其广阔的应用前景。目前, 对 25-OH-Vit D 的检测建立了放射免疫法、酶联免疫吸附测定法、高效液相色谱-质谱法、化学发光免疫法等方法, 但还未见公开的文献资料报道国内实验室建立自己的参考区间。本实验参照相关文献的要求, 用放免法建立本室的 25-OH-Vit D 参考区间。

1 材料和方法

1.1 主要仪器和试剂

(1) 检测仪器: GC-2016 γ 放射免疫计数器(科大创新股份有限公司中佳分公司)

(2) 检测试剂: 25-OH-Vit D 试剂盒分别由意大利 Diasorin 有限公司[说明书给定的生物参考区间为(9.0~37.6) ng/ml]和国内代理商天津协和医药科技有限公司提供[说明书给定的参考区间为(8.9~46.7) ng/ml]。

1.2 健康参考个体的筛选

筛选连续 3 个月在广州金域健康体检中心体检人群的标本以及各医院送检的健康体检人群的标本 204 例, 其中验证给定参考区间时选取 60 例标本; 建立本实验室参考区间时选取 144 例标本, 其中包括 61 例 1~18 岁青少年人群的标本。样本筛选标准: 选取样本时年龄分布均匀, 男女性别比例恰当; 排除骨质疏松患者, 最近生病、酗酒、服药、怀孕、捐血者等。

1.3 方法与步骤

(1) 检测操作: 严格按照试剂盒说明书操作, 进行双管检测。验证给定的参考区间时, 均按照 CLSI C28-A3^[2] (临床试验标准研究所——确定、验证和建立临床实验室参考区间) 的要求, 只允许最多有 10% 的数据超出所验证的参考区间, 否则需重新建立参考区间。建立参考区间时, 同样按照 CLSI C28-A3 文件进行。只有当检测时质控结果在控、拟合的标准曲线达到要求时数据才可用, 以排除测量中的误差。

(2) 离群点的检查: 将所有数据按从小到大排列, 将疑似离群点和其相临点的差值(D)和数据全距(R)相除, D/R 应小于等于 1/3, 超出 1/3 者考虑为离群点。

(3) 绘制数据分布图: 为了解数据的分布特性, 将所有检测结果绘制数据分布图。若所有数据

呈现高斯正态分布, 可按 $\bar{x} \pm 1.96s$ 表示 95% 数据分布范围; 若数据不呈现高斯正态分布, 则用百分位数法确定 2.5% 和 97.5% 位数的参考区间。

(4) 数据分组: 检查项目的检测参考区间是否存在年龄、性别等的差异, 可用 Z 检验。Z 检验公式为:

$$Z = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\left(\frac{s_1^2}{n_1}\right) + \left(\frac{s_2^2}{n_2}\right)}}$$

$$Z^* = 3(n_{average}/120)^{1/2} = 3[(n_1+n_2)/240]^{1/2}$$

式中, \bar{x}_1 和 \bar{x}_2 为 2 组各自的均值, s_1 和 s_2 为 2 组各自的标准差, n_1 和 n_2 为 2 组各自的数量, Z 为统计量 Z 值, Z^* 为临界值。

判断是否需要分组: ①有较大的 s (如 s_2 为较大的 s), 计算是否超过 $1.5s_1$, 即若 $s_2/(s_2-s_1)$ 大于 $1.5s_1$, 则考虑分组。②Z 值超过 Z^* 值, 则考虑分组。③检测项目分组能对临床提供有价值的信息, 则考虑分组。

2 结果

2.1 验证给定的参考区间

按意大利 Diasorin 有限公司提供的试剂说明书的生物参考区间(9.0~37.6) ng/ml 和国内代理商天津市协和医药科技有限公司提供的参考区间(8.9~46.7) ng/ml, 60 例健康个体标本的检测结果全部在两个参考区间范围内, 参考区间验证获得通过, 实验室可以引用厂商提供的参考区间。由于国内外人群及地理环境等的差异, 国内代理商和国外厂商建立的 25-OH-Vit D 参考区间可能有一定差异, 实验室需要建立自己合适的参考区间。

2.2 建立本实验室参考区间

参照崔庆华等^[3]的方法, 将所有 204 例数据进行整理分析。

(1) 离群点检查: 所有数据分布均匀, 没有发现明显的离群点。

(2) 分组考虑: 将所有 204 个数据分别按性别和年龄(1~18 岁青少年-成年人) 分组, 2 组所计算的相应均值和标准差($\bar{x} \pm s$) 见表 1。从分组均值来看, 女性 25-OH-Vit D 略高于男性, 青少年 25-OH-Vit D 略高于成年人。将相关数据代入 Z 检验

计算公式,按年龄分组得 $Z=2.05$, $Z^*=2.76$;按性别分组得 $Z=2.29$, $Z^*=2.76$ 。因 Z 值均小于 Z^* 值,故理论上均可以不分组。但青少年结果数据分布相对集中,95%数据分布下限明显高于成年人,可以分别设立青少年组及成年人组参考区间,以便为临床提供足够的有价值的信息。

表1 按年龄和性别分组的 25-OH-Vit D 均值和标准差 ($\bar{x}\pm s$) 及数据分布范围

组群	例数	$\bar{x}\pm s$	95%数据分布范围(按高斯正态分布,ng/ml)
年龄	1-18岁	61	27.8±6.0
	18岁以上	143	25.8±7.2
性别	男	102	25.6±6.5
	女	102	27.8±7.2

(3) 实验室参考区间:所有数据分布见表2。从表2可见,数据呈高斯正态分布,可以用 $\bar{x}\pm 1.96s$ 来计算95%人群的参考区间。经计算,均值 $\bar{x}=26.4$,标准差 $s=6.9$,由此确定不分年龄、性别差异的所有人群的生物参考区间为12.8~40.0 ng/ml。

表2 204名健康个体 25-OH-Vit D 测定结果

测定值区间(ng/ml)	男(例)	女(例)	合计(例)
9.0~12.0	2	2	4
12.1~15.0	5	1	6
15.1~18.0	6	9	15
18.1~21.0	11	6	17
21.1~24.0	17	11	28
24.1~27.0	22	15	37
27.1~30.0	18	19	37
30.1~33.0	8	16	24
33.1~36.0	7	10	17
36.1~39.0	2	6	8
39.1~42.0	2	5	7
42.1~45.0	2	1	3
45.1~48.0	0	1	1

3 讨论

适合本地人群的实验室参考区间的建立具有重要意义,但完全按国际临床化学协会提出的建立实验室参考区间的方法要求严格、程序复杂,实验室现行条件制定生物参考区间实施存在客观难度。CLSI C28-A3 文件阐明实验室可以引用试剂说明书和权威书刊推荐的生物参考区间,也可以借鉴其他实验室的生物参考区间,并推荐了相应的验证方法。本实验室的 25-OH-Vit D 参考区间建立过程表明:女性 25-OH-Vit D 参考区间略高于男性,青少

年略高于成年人。建议设立青少年组及成年人组参考区间,以便为临床提供足够的有价值信息。

人体 25-OH-Vit D 的水平与维生素 D 摄入量、日照时间、不同地区人群的饮食种类、饮食习惯、户外活动量等有一定的差异,这可能是本实验室建立的本地区人群的 25-OH-Vit D 参考区间与国内外厂商有一定差异的原因。各个实验室在引用或借鉴本实验室 25-OH-Vit D 参考区间时,要考虑地理条件、地区生活习惯、所服务的人群、种族等因素。

摄入足够的维生素 D,使人体 25-OH-Vit D 维持在合适水平,不仅能够增强骨骼强度、预防佝偻病,而且在预防心血管疾病等方面具有更加深远的研究价值。根据 Zittermann 等^[4] 建议,25-OH-Vit D 在体内状态的分类标准如下:缺乏:小于 5 ng/ml;不足:5~19 ng/ml;降低:20~39 ng/ml;充足:40~100 ng/ml;中毒:大于 100 ng/ml。按照此标准,几乎所有中国人维生素 D 摄入不足,这明显与中国实际情况不符。美国的大型医学独立实验室 Arup 所建立的分类标准为:缺乏:小于 20 ng/ml;不足:20~29 ng/ml;最适水平:30~80 ng/ml;可能中毒:大于 80 ng/ml。此标准也表明大部分中国人维生素 D 摄入不足。故应提示临床医生:实验室所提供的参考区间仅仅是当地 95%人群体内 25-OH-Vit D 的平均水平,区域人群维生素 D 摄入量可能整体偏低。临床医生在评估受检者维生素 D 摄入量是否足够时,应考虑人体应有的足够量的 25-OH-Vit D 水平,给予受检者适当建议,使体内 25-OH-Vit D 维持在合适水平,确保人体必需的营养和健康。

参 考 文 献

- [1] Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation*, 2008, 117(4): 503-511.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline—third edition. CLSI document C28-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
- [3] 崔庆华,张云,薛元明,等.健康儿童、青少年血清生长激素的参考值调查. *放射免疫学杂志*, 2000, 13(2): 73-74.
- [4] Zittermann A. Vitamin D in preventative medicine: are we ignoring the evidence?. *Br J Nutr*, 2003, 89(5): 552-572.

(收稿日期:2009-01-02)