

¹³ 碳 - 呼气试验质控方法的建立及初步应用

谢昌辉 李秀江 刘日信 冼碧霞 朱 琳

摘要 **目的** 建立¹³碳 - 呼气试验(¹³C - UBT)的质控方法并进行初步应用。**方法** 每月 1 次使用空白样本对¹³C 红外光谱仪进行重复性测试(每通道 6 次),测定结果记为超基准值(DOB);每季度一次使用标准品(DOB = 3.0)对光谱仪进行重复性测试(每通道 3 次);日常工作中,当¹³C - UBT 测试结果可疑时,首先检查仪器的工作条件是否达标,再使用空白样本对光谱仪的每一通道进行单次测试;以空白或标准品测定值 - 标准值 ≥ 1.5 和(或) ≤ -1.5 作为光谱仪测试状态异常的判断标准。**结果** 空白样本重复性测试时,如单个通道 ≥ 2 次异常[即 DOB 值 ≥ 1.5 和(或) ≤ -1.5],该通道应封闭停用;6 通道中, >2 通道异常,应停机维修。标准品重复性测试时,如单个通道 2 次异常[即 DOB 值 ≥ 4.5 和(或) ≤ 1.5],通道应封闭停用;6 通道中, >2 通道异常,应停机调试。日常空白测试, ≤ 1 通道异常,结果可信; ≥ 3 通道异常,整机的测试结果应当舍弃,应停机维修。如 2 通道异常,可关机半小时后再启动光谱仪,再次对每一通道进行空白单次测试。如 ≤ 1 通道异常,继续进行¹³C - UBT,仅原 2 通道异常则封闭停用。**结论** 建议将空白样本和标准品的重复性测试作为¹³C - UBT 的常规质控方法,以确保¹³C - UBT 结果的准确、可信。

关键词 ¹³碳 - 呼气试验 重复性测试 质量控制 超基准值 红外光谱仪

中图分类号 R57 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.12.044

Establishment of Method for Quality Control of ¹³C - urea Breath Test and the Preliminary Application. Xie Changhui, Li Xiujiang, Liu Rixin, et al. Department of Nuclear Medicine, Department of Nuclear Medicine, The Affiliated Shenzhen Baoan Hospital of the Shouzhong Medical University, Guangdong 518101, China

Abstract **Objective** To establish the method for quality control of ¹³C - urea breath test(¹³C - UBT) and conduct the preliminary application. **Methods** A repeatable test of ¹³C infrared spectrometer(6 times per channel) was carried out with a blank sample once a month. The determination results may be recorded as delta over baseline(DOB). A repeatable test of spectrometer(3 times per channel) was used with a standard sample(DOB value = 3.0) once a quarter. The working conditions of instrument were first checked to see whether they were up to scratch when the ¹³C - UBT results were suspect in daily work, and then a single test of spectrometer(per channel) was used with the blank samples. The difference of the blank or standard measured value and standard is more than 1.5 and/or -1.5 as the criterion for judging whether to determine the abnormal test status of spectrometer. **Results** Such as greater than or equal to 2 times abnormalities(DOB value ≥ 1.5 and/or ≤ -1.5) were found for a single channel, the channel should be closed out when the repeatable test was carried out with a blank sample. The spectrometer should be repaired if more than 2 channels were abnormal among 6 channels. Such as greater than or equal to 2 times abnormalities(DOB value ≥ 4.5 and/or ≤ 1.5), the channel should be closed out when the repeatable test is used with a standard sample. The spectrometer should be adjust if more than 2 channels are abnormal among 6 channels. The result was credible if less than 1 channel is abnormalities when the single daily test was used with a blank sample. The spectrometer should be repaired and the test results of the machine should be abandoned if greater than or equal to 3 channels were abnormal among 6 channels. You can start spectrometer again after shutting down half an hour if 2 channels are abnormalities. Then a single blank test was used again. ¹³C - UBT should be continued if less than 1 channel was abnormalities when the single daily test again. Such as only the original 2 channels were abnormal, they were closed out. **Conclusion** The repeatable test of blank samples and standard were recommended as a routine quality control method of ¹³C - UBT to ensure that the results of ¹³C - UBT were accurate and credible.

Key words ¹³Carbon - urea breath test; Repeatable test; Quality control; Delta over baseline; Infrared spectrometer

自 1987 年 Graham 等^[1]首次报道用¹³C - 尿素呼气试验(¹³C - urea breath test, ¹³C - UBT)诊断幽门螺

杆菌(helicobacter pylori, Hp)感染以来,多年的临床研究及应用证明¹³C - UBT 是一种目前临床无创、敏感、准确诊断 Hp 感染、监测疗效的重要方法^[2]。既往文献对食物、药物、胃内酸化作用、样本收集时间以及¹³C - 尿素的合成和质量控制对¹³C - UBT 检测 Hp

结果的影响进行了探讨, 尚未见对¹³C-UBT 本身进行质控的文献报道^[2,3]。笔者在多年实践基础上建立了¹³C-UBT 的质控方法并进行了初步应用, 现报道如下。

资料与方法

1. 设备和试剂: HCBT-01 型¹³C 呼气试验红外光谱仪、Hp 集气袋(气体容积≥120ml) 及标准品均由深圳市中核海得威生物科技有限公司生产和提供。

2. 操作方法: (1) 空白样本重复性测试: 在适宜的环境条件(温度 15~30℃, 避免温度剧烈变化, ≤3℃/h; 相对湿度≤75%; 大气压力 75~106kPa; 无粉尘、腐蚀性气体, 通风良好; 避免震动) 下常规开启¹³C 呼气试验红外光谱仪及其电脑系统, 预热、联机, 测试仪自检完成并处于正常状态。在不服用¹³C-尿素胶囊的情况下, 受试者拔出蓝色的底气集气袋呼气口的盖子, 从呼气口往集气袋内呼气, 当集气袋被吹饱满后立即拧紧盖子; 同样收集样气(粉红色袋); 然后拔去集气袋的盖子分别插入底气、样气通道的对应入口。输入样品编号, 选择样品编号后进行检测。每通道重复 6 次。该检测每月 1 次。测定结果记为超基准值(delta over baseline, DOB)。(2) 标准品重复性测试: 将 DOB 值 = 3.0 体积为 3000ml 的底气、样气袋拔去盖子后分别插入底气袋、样气袋通道的对应入口进行检测, 每通道重复 3 次。该检测每季度 1 次。(3) 随机空白测

试: 日常工作中, 当¹³C-UBT 测试结果可疑: 连续 5 个通道样本测试为阳性、当天 40% 以上的样本测试为阳性、短时间内多个通道样本测试 DOB≤-3.0 或 DOB≥60.0 时, 使用空白样本对外光谱仪的每一通道进行单次测试。(4) 光谱仪异常的判断标准: 以空白或标准品测定值-标准值≥1.5 或≤-1.5 作为光谱仪测试状态异常的判断标准。

3. 统计学方法: 采用 SPSS 11.5 软件计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 在进行统计分析行 *t* 检验, 率比较采用 χ^2 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. ¹³C 红外光谱仪正常情况下空白重复性测试: 结果见表 1, 各通道之间测试结果差异无统计学意义(*t*≤2.17, *P* > 0.05), 异常发生率差异无统计学意义($\chi^2 = 5.14$, *P* > 0.05)。同一台光谱仪异常(需要维修)情况下空白重复性测试结果见表 2, 各通道之间测试结果差异无统计学意义(*t*≤2.08, *P* > 0.05), 异常发生率差异无统计学意义($\chi^2 = 8.00$, *P* > 0.05)。正常和异常时总的 DOB 值分别为 -0.26 ± 0.70、-0.68 ± 1.77, 差异无统计学意义(*t* = 1.42, *P* > 0.05); 异常发生率分别为 2.78% (1/36)、47.22% (17/36), 差异有统计学意义($\chi^2 = 16.67$, *P* < 0.01)。

表 1 正常¹³C 红外光谱仪空白重复性测试结果 (DOB 值)

通道	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	$\bar{x} \pm s$	异常率(%)
I	-0.1	0.1	-0.7	1.3	-0.7	-0.3	-0.07 ± 0.74	0
II	-1.3	0.0	-1.1	-1.5	-0.8	-0.6	-0.88 ± 0.54	16.7
III	-0.8	-0.7	0.6	-0.6	0.0	-1.2	-0.45 ± 0.64	0
IV	-1.0	-0.2	-0.7	-0.1	-0.6	-0.4	-0.50 ± 0.34	0
V	-0.7	-0.6	-0.3	-0.7	-0.4	0.3	-0.40 ± 0.38	0
VI	-0.2	0.7	0.3	1.4	1.0	0.1	-0.58 ± 0.66	0

测试时间: 2014 年 9 月 10 日 14:30 时

表 2 异常¹³C 红外光谱仪空白重复性测试结果 (DOB 值)

通道	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	$\bar{x} \pm s$	异常率(%)
I	-3.2	-3.0	-2.0	4.4	-0.7	-0.6	-0.85 ± 2.80	66.67
II	1.8	-2.5	1.6	1.1	-2.6	-2.2	-0.47 ± 2.17	83.33
III	-2.2	1.1	0.6	2.4	0.1	-0.9	0.18 ± 1.60	33.33
IV	-1.1	-3.0	2.3	0.8	-1.4	-0.4	-0.47 ± 1.84	33.33
V	-1.8	0.2	-3.4	1.0	-1.2	0.4	-0.80 ± 1.65	16.67
VI	-1.2	-2.3	-2.6	-1.2	-2.2	-2.7	-2.03 ± 0.67	66.67

测试时间: 2014 年 9 月 1 日 10:30 时

2. ¹³C 红外光谱仪在正常测试状态时标准品重复性测试: 结果见表 3, 其异常发生率为 0(0/18), 明显低于异常时 38.89% (7/18, $\chi^2 = 6.38$, *P* < 0.05);

其 DOB 值(2.09 ± 0.27) 也明显低于异常时(4.02 ± 1.04, *t* = 7.62, *P* < 0.01)。光谱仪在异常测试状态时标准品重复性测试结果见表 4。

表 3 正常¹³C 红外光谱仪标准品重复性测试结果 (DOB 值)

通道	(1)	(2)	(3)	$\bar{x} \pm s$	异常率 (%)
I	2.1	2.0	2.3	2.13 ± 0.16	0
II	2.1	2.3	2.4	2.27 ± 0.15	0
III	1.9	2.2	2.3	2.13 ± 0.21	0
IV	2.6	1.8	1.6	2.00 ± 0.53	0
V	1.6	2.2	2.2	2.00 ± 0.35	0
VI	2.2	2.1	1.8	2.00 ± 0.21	0

测试时间:2014 年 10 月 14 日 14:30 时

表 4 异常¹³C 红外光谱仪标准品重复性测试结果 (DOB 值)

通道	(1)	(2)	(3)	$\bar{x} \pm s$	异常率 (%)
I	4.1	4.8	5.3	4.73 ± 0.60	66.7
II	2.1	2.9	3.4	2.80 ± 0.66	0
III	2.9	4.2	5.1	4.07 ± 1.11	33.3
IV	4.6	3.8	3.6	4.00 ± 0.53	33.3
V	5.6	5.2	4.8	5.20 ± 0.40	100.0
VI	2.2	4.0	3.8	3.33 ± 0.99	0

测试时间:2014 年 8 月 27 日 15:00 时

3. 当对¹³C - UBT 测试:结果可疑时,使用空白样本对光谱仪的每一通道进行单次测试,8 次随机空白测试结果见表 5。

表 5 8 次随机空白测试结果 (DOB 值)

通道	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
I	1.2	-1.2	1.1	-1.2	-1.3	-0.7	1.6	-1
II	-0.8	-0.7	0.3	-2.2	-0.7	-0.9	1	-0.7
III	1.5	0	-0.1	3.7	-0.1	-0.4	2.4	0
IV	-0.3	0.2	1.3	1.3	0.1	0.6	2.7	-0.3
V	0.6	1.2	0.3	0.3	1.3	-1.0	1	-1
VI	-1.5	0.1	-0.2	2.6	-0.6	-0.3	-1.5	0

讨 论

重复性测量 (repeated measure) 是指对同一观察对象的同一观察指标在不同时间点上进行的多次测量^[4]。该设计方法以时间为连续变量,全面描述和分析指标各个时点的变化,分析时间变化趋势以及是否受可能因素的影响,从而全面、动态地对临床研究的重复测量数据做出恰当分析和评价。¹³C 红外光谱仪说明书提示正常情况下连续 10 次空白测试可重复性技术指标为结果的平均值理论上可达到 -0.30 ~ 0.30,精确性的技术指标为标准误差值 ≤ 0.30,本机分别为 -0.26、0.27,似乎是达到了理论上的要求。但具体到每个通道,6 次空白重复性测试中有可能多个通道测试值异常高 (如 2.6、2.4、2.1)、另几个通道异常低 (如 -2.3、-3.0、-2.0),而均数可能在 -0.30 ~ 0.30 之间。本研究空白测试仅一个通道平

均 DOB 值为 -0.07,其余均 < -0.30;而标准品测试的标准误差值有 2 个通道 > 0.30;光谱仪正常和异常时总的 DOB 值以及各通道之间测试结果差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05)。由此看来,以整机或每个通道 DOB 的平均值和标准误差来评价光谱仪的可重复性和精准性并不可靠。

在实际工作中,厂家推荐以空白或标准品测定值 - 标准值 > 1.5 或 < -1.5 作为光谱仪测试状态异常的判断标准。本研究中光谱仪正常测试状态时空白重复性测试的异常发生率为 2.78%,明显低于异常状态时的 47.22% ($P < 0.01$);标准品重复性测试的异常发生率则分别为 0、38.89%,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。以重复性测试时出现异常的通道数来判断光谱仪测试状态是否正常更加切实可行。观察表 1 ~ 4,结合近 5 万个测试实践,笔者建议在空白重复性测试时,如单个通道 ≥ 2 次异常 [即 DOB 值 ≥ 1.5 和 (或) ≤ -1.5],该通道应予封闭停用;6 通道中,如 > 2 通道异常,光谱仪测试无论可重复性还是精准性均无法满足临床需要,应停机维修。

多数文献建议样本测试的 DOB 值为 4.0 ~ 4.4 时提示 Hp 可疑阳性,DOB 值 ≥ 4.5 考虑为 Hp 阳性感染^[5-7]。由于¹³C - UBT 测试阳性结果时,患者需要进行正规的 2 联或 3 联抗生素治疗以根除 Hp 感染,而阴性患者则不必进行抗生素的治疗^[2,5,8]。在实际工作中,少数 Hp 可疑阳性,甚至 DOB 值不是太高 (DOB ≤ 8.0) 的患者在非抗生素治疗或者单纯饮食调节后,再次¹³C - UBT 测试为阴性,可能为胃黏膜得到修复和保护,Hp 数量及致病能力下降所致。笔者的经验认为¹³C - UBT 测试假阳性结果的危害远高于假阴性结果,故在质控设计时引入了光谱仪标准品 (DOB = 3.0) 重复性测试项目,以检测仪器的假阳性。标准品重复性测试时,如单通道 2 次异常,即 DOB 值 ≥ 4.5 和 (或) ≤ 1.5,通道应予封闭停用;6 通道中,如 ≥ 3 通道异常,提示光谱仪的假阳性率、假阴性率太高,应停机调试。

日常工作中,当¹³C 红外光谱仪测试结果可疑时,首先应检查仪器的工作的温度、湿度、大气压力是否合适,环境有无粉尘、腐蚀性气体,通风是否良好,并避免仪器震动。如光谱仪工作的环境条件良好,再使用空白样本对光谱仪的每一通道进行单次测试。如果 ≤ 1 通道异常,则先前的测试结果可信,可能为患者本身的疾病状态、¹³C 胶囊包装的量以及食物、药物、胃内酸化等因素对患者个体的影响,可继续使用

光谱仪测试其他样本。若 ≥ 3 通道异常,建议整机的测试结果舍弃,停机维修。如有2通道异常,可停机半小时后再启动红外光谱仪,再次对每一通道进行空白单次测试, ≤ 1 通道异常,继续进行 ^{13}C -UBT;如仅原2通道异常,则将异常的通道封闭停用,其他通道继续使用。

实践证明,对 ^{13}C 红外光谱仪进行每个月1次使用空白样本重复性测试、每季度1次标准品重复性测试和随机空白样本测试作为 ^{13}C -UBT的常规质控方法,可以确保 ^{13}C -UBT结果的准确、可信。

参考文献

- 1 Graham DY, Klein PD, Evans DJ, et al. Campylobacter pylori detected noninvasively by the ^{13}C -urea breath test[J]. Lancet, 1987, 23(6):1174-1177
- 2 王青霞,安会波. ^{13}C -尿素呼气试验检测幽门螺杆菌的研究进展[J]. 河北医药, 2009, 31(9):1105-1107

- 3 Carlos R, Filho SA. Síntese e controle de qualidade da ureia enriquecida em ^{13}C para diagnóstico da Helicobacter pylori (HP) Synthesis and quality control of ^{13}C -enriched urea for Helicobacter pylori(HP) diagnosis[J]. Química Nova, 2013, 36(1):107-113
- 4 陈静,邵明义,魏明,等. 重复测量设计的方法在慢性疾病疗效评价中的应用探讨[J]. 辽宁中医杂志, 2012, 39(3):442-443
- 5 张丽颖,李振华,李保双,等. ^{13}C -尿素呼气试验定量值与胃黏膜病变程度的相关性[J]. 世界华人消化杂志, 2013, 21(2):177-181
- 6 张晏,李婉玲. ^{13}C -呼气试验阳性患者消化道隔离意识调查[J]. 中国老年保健医学杂志, 2014, 12(5):95-96
- 7 邱岩,高炳霞,齐颖,等. 门诊患者 ^{13}C -呼气试验检测幽门螺杆菌的调查分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(24):5960-5962
- 8 杨运波. HP酶联免疫检测法和 ^{13}C -UBT法与临床疗效的关系[J]. 辽东学院学报:自然科学版, 2012, 24(2):119-121

(收稿日期:2015-04-15)

(修回日期:2015-05-19)

仙灵骨葆对去卵巢骨质疏松大鼠模型骨微结构的影响

贺 莉 李 刚

摘 要 **目的** 观察仙灵骨葆对去卵巢骨质疏松大鼠模型骨微结构损伤的改善作用,并探讨其可能机制。**方法** 30只雌性SD大鼠随机分为3组,正常组:卵巢假切+安慰剂,模型组:卵巢切除+安慰剂,治疗组:卵巢切除+仙灵骨葆。治疗组每天仙灵骨葆悬浊液灌胃,正常组和模型组按照相同剂量给予生理盐水灌胃,干预12周。实验结束后采集血清标本和骨骼标本做生化检测和骨微结构形态学分析。**结果** 去卵巢大鼠雌二醇水平显著降低,血钙水平降低,碱性磷酸酶和骨钙素升高($P < 0.05$),仙灵骨葆能够改善上述现象;仙灵骨葆能够显著改善OVX大鼠松质骨丢失,显著增加BMD、Tb.Th、Tb.N、Tb.Sp和BV($P < 0.05$);治疗组皮质骨与正常组相比,Cr.Th、BV和BV/TV显著降低,PO则显著升高($P < 0.05$),但较模型组有所改善。**结论** 仙灵骨葆具有延缓去卵巢大鼠发生骨密度下降、骨量减少及骨微结构破坏的作用,其机制可能与调控成骨细胞和破骨细胞活性及功能相关。

关键词 骨质疏松症 卵巢切除术 骨微结构 仙灵骨葆

中图分类号 R3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.12.045

Effect of Xianlinggubao on Bone Microstructure of OVX Rats. He Li, Li Gang. Xi'an Traditional Chinese Medicine Hospital Orthopedic Department, Shaanxi 710001, China

Abstract Objective To observe the effect of Xianlinggubao on bone microstructure damage of ovary osteoporosis rat model, and discuss the possible mechanism. **Methods** Thirty female SD rats were randomly divided into 3 groups: normal group (sham plus placebo), model group (OVX plus placebo), treatment group (OVX plus Xianlinggubao). Treatment group was gavaged with Xianlinggubao suspension every day for 12 weeks, in accordance, normal group and model group were given same dose saline. In the end of experiment, serum samples and bone specimen were collected for biochemical detection and bone microstructure morphology analysis. **Results** The blood estradiol and calcium levels of OVX rats were significantly reduced, ALP and osteocalcin significantly increased ($P < 0.05$), but xianlinggubao was able to improve the above symptoms. Xianlinggubao could improve the cancellous bone loss of OVX rats, significantly

作者单位:710001 西安市中医医院骨伤科(贺莉); 471002 洛阳正骨医院(李刚)

通讯作者:李刚,电子邮箱:773887489@qq.com