

### 人群维生素 A 缺乏筛查方法

Method for Vitamin A deficiency screening

2017 - 08 - 01 发布

2018 - 02 - 01 实施

---

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会 发布

## 前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准主要起草单位：中国疾病预防控制中心营养与健康所、首都儿科研究所、北京大学医学部公共卫生学院、浙江省疾病预防控制中心。

本标准主要起草人：霍军生、朴玮、丁钢强、孙静、黄建、王丽娟、唐艳斌、陈頔、李瑾、高洁、张霆、林晓明、李可基、章荣华。

# 人群维生素 A 缺乏筛查方法

## 1 范围

本标准规定了人群维生素A缺乏筛查的指标、检测方法及相应的维生素A缺乏的判定界值。本标准适用于人群维生素A缺乏的判定，个体维生素A缺乏的临床诊断需要结合临床。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

WS/T 225 临床化学检验血液标本的收集与处理

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**维生素 A** vitamin A

**视黄醇** retinol

紫罗酮衍生物的总称。一种脂溶性维生素。有维生素A<sub>1</sub>及维生素A<sub>2</sub>两种

### 3.2

**维生素 A 缺乏** vitamin A deficiency

人体内维生素A水平不足以维持正常生理功能，血清（血浆）中视黄醇水平儿童（6岁及以下）低于0.35 μmol/L，6岁以上儿童及成人低于0.70 μmol/L，并可能出现眼、皮肤等的病理改变。

### 3.3

**维生素 A 边缘型缺乏** marginal vitamin A deficiency

人体内维生素A水平可以维持正常生理功能，但是补充维生素A后血清（血浆）中视黄醇水平上升。

## 4 人群维生素 A 边缘型缺乏和缺乏判定标准

以单位体积血清（血浆）视黄醇含量作为维生素A缺乏筛查指标，当实测的血清（血浆）视黄醇含量小于相应参考值时，即判定为相应维生素A边缘型缺乏或者缺乏，判定指标及判定界值见表1。

表1 人群维生素 A 边缘型缺乏和缺乏的判定指标及判定界值

维生素 A 状况	血清（血浆）视黄醇含量	
	边缘型缺乏/（ $\mu\text{mol/L}$ ）或（ $\mu\text{g/mL}$ ）	缺乏/（ $\mu\text{mol/L}$ ）或（ $\mu\text{g/mL}$ ）
儿童（6岁及以下）	$\geq 0.35 \sim < 0.70$ , $\geq 0.10 \sim < 0.20$	$< 0.35$ , $< 0.10$
6岁以上儿童及成人	$\geq 0.70 \sim < 1.05$ , $\geq 0.20 \sim < 0.30$	$< 0.70$ , $< 0.20$

注：转换系数1mol视黄醇= 286.45 g 视黄醇。

## 5 人群维生素 A 缺乏公共卫生问题等级判定标准

在1岁及以上被评估人群中，计算血清（血浆）视黄醇含量 $< 0.70 \mu\text{mol/L}$ 人数比例，根据维生素A缺乏公共卫生问题判定标准对该人群的维生素A缺乏的公共卫生问题严重程度进行判定。判定问题等级及判定值见表2。

表2 维生素 A 缺乏公共卫生问题判定标准

公共卫生问题等级	流行率
轻度	$\geq 2\% \sim \leq 10\%$
中度	$> 10\% \sim < 20\%$
重度	$\geq 20\%$

注1：适用于年龄 $\geq 1$ 岁人群。  
注2：维生素A缺乏判定标准 $< 0.70 \mu\text{mol/L}$

## 6 血清（血浆）维生素 A 测定方法

按附录A规定的血清（血浆）视黄醇测定方法—高效液相色谱法（HPLC）进行测定。

## 附录 A (规范性附录)

### 血清（血浆）视黄醇测定方法—高效液相色谱法（HPLC）

#### A.1 原理

血清（血浆）中加入内标视黄醇醋酸酯，经正己烷萃取处理，使用高效液相色谱C18反向柱进行分离后，经紫外检测器进行定量检测。

#### A.2 试剂和材料

除非另有规定，本方法所用均为色谱纯试剂和蒸馏水或相当纯度的水（H<sub>2</sub>O）。

- A.2.1 无水乙醇（C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O）。
- A.2.2 甲醇（CH<sub>4</sub>O）。
- A.2.3 正己烷（C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>）。
- A.2.4 硝酸（HNO<sub>3</sub>）。
- A.2.5 视黄醇标准品（C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O）。
- A.2.6 视黄醇醋酸酯标准品（C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>）。
- A.2.7 高纯氮气（N<sub>2</sub>）。

#### A.3 仪器

- A.3.1 高效液相色谱仪带紫外分光检测器。
- A.3.2 氮吹仪。
- A.3.3 离心机：转速≥5000 r/min。
- A.3.4 天平：感量为0.1 mg。
- A.3.5 紫外分光光度计。

#### A.4 样本采集和保存

参照WS/T 225进行静脉血采集、血清（血浆）分离和血样的保存。

注：血样的采集和前期处理均须在避光或红光环境下进行，以免血样中视黄醇的含量发生变化。

#### A.5 分析步骤

##### A.5.1 视黄醇标准品储备液的配制

A.5.1.1 取一定量的视黄醇标准品，放入10 mL容量瓶中，用少量无水乙醇充分溶解后定容至10 mL，制成视黄醇标准品储备液。

A.5.1.2 吸取100 μL视黄醇标准品储备液，置于10 mL容量瓶中，加入无水乙醇定容到10 mL（重复两次）。

A. 5. 1. 3 采用紫外分光光度计于325 nm波长处, 检测视黄醇标准品储备液的含量, 空白试剂为无水乙醇。用比吸光系数计算出标准储备液中视黄醇的浓度。

A. 5. 1. 4 储备液中视黄醇含量按式(A. 1)计算。

$$C_1 = \frac{A}{E} \times \frac{1}{100} \times \frac{10.00 \times 10^3}{V} \dots\dots\dots (A. 1)$$

式中:

$C_1$ —视黄醇标准品储备液浓度, 单位为毫克每毫升 (mg/mL);

A—视黄醇的平均紫外吸光值;

E—视黄醇的1%比吸光系数(视黄醇为1835);

V—加入标准品储备液的量, 单位为微升 (μL);

10.00—标准品储备液最终稀释体积, 单位为毫升 (mL)。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示, 结果保留三位有效数字。

注1: 视黄醇标准品储备液须-20℃以下避光储存, 临用前需用紫外分光光度法标定其准确浓度。

注2: 配制所用的所有容器均经硝酸浸泡24h, 并完全洗净晾干。

## A. 5. 2 视黄醇醋酸酯内标的配制

A. 5. 2. 1 采用感量为0.1 mg天平, 准确称量视黄醇醋酸酯标准品82.0 mg, 倒入10 mL容量瓶中, 无水乙醇充分溶解后定容至10 mL, 配制成视黄醇醋酸酯内标浓溶液。

A. 5. 2. 2 使用高效液相色谱仪, 在325 nm处检测视黄醇醋酸酯内标浓溶液的峰面积后, 用无水乙醇稀释至浓度约为6 μg/mL的视黄醇醋酸酯内标工作溶液。

## A. 5. 3 标准曲线的绘制

### A. 5. 3. 1 视黄醇标准曲线的配制

分别吸取标定的视黄醇标准储备液置于10 mL棕色容量瓶中, 再加入等体积视黄醇醋酸酯内标工作液置于棕色容量瓶中, 用无水乙醇稀释至刻度, 使视黄醇标准液的浓度分别为1.00 μg/mL, 0.50 μg/mL, 0.30 μg/mL, 0.20 μg/mL, 0.10 μg/mL和0.05 μg/mL。待测, 上机。

注: 所有标准品均保存于-20℃低温冰箱中。

### A. 5. 3. 2 高效液相色谱参考条件

高效液相色谱参考条件应符合如下要求:

——预柱: 4.0 mm×4.5 cm, 10 μm。

——分析柱: C18柱, 4.6 mm×25.0 cm, 5 μm。

——流动相: 甲醇: 水=98: 2。流动相使用前充分混匀, 并在临用前脱气。

——流速: 1 mL/min。

——检测波长: 325 nm。

——柱温: 28℃±1℃。

——进样量: 20 μL。

### A. 5. 3. 3 视黄醇标准曲线的绘制

分别取视黄醇标准系列溶液由低至高进行测定，每次测定均加入与标准品中内标浓度相同的视黄醇醋酸酯内标进行测定。以视黄醇标准系列溶液浓度为横坐标，以视黄醇峰面积与视黄醇醋酸酯内标的峰面积之比为纵坐标绘制标准曲线，进行线性回归（ $r^2 \geq 0.999$ ）。内标测定两个平行样。

#### A. 5. 4 血样中视黄醇的测定

A. 5. 4. 1 冻存血清（血浆）血样需要在室温，避光条件下进行自然解冻，并震荡混匀。新鲜血清（血浆）血样可直接进行下一步操作。

A. 5. 4. 2 吸取血清（血浆）和内标各100  $\mu\text{L}$ 至1.5 mL离心管中，振荡混匀30 s，加1 mL正己烷萃取，振荡1min。

A. 5. 4. 3 5000 r/min下离心5 min，取出后吸取上清液800  $\mu\text{L}$ 至另一1.5 mL离心管中。

A. 5. 4. 4 氮气吹干后加入200  $\mu\text{L}$ 乙醇溶解，振荡混匀30 s，离心5 min，5000 r/min。

A. 5. 4. 5 吸取150  $\mu\text{L}$ 样本溶液，使用高效液相色谱仪进行检测。根据色谱图中样品视黄醇的峰面积与视黄醇醋酸酯内标峰面积的比值，在标准曲线上求出样品中视黄醇的含量。

---