

# 尿血红蛋白对苄索氯铵法定量测定尿蛋白的干扰评价

孙宁娜, 李洪春<sup>△</sup>

(徐州医学院附属医院检验科, 江苏徐州 221002)

**摘要:**目的 评价尿血红蛋白对苄索氯铵法定量测定尿蛋白的影响。方法 参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)的 EP7-A2 方案, 配制不同浓度血红蛋白的尿液标本做剂量-效应试验, 同时收集 50 例不同隐血程度的尿液标本做临床标本的偏倚试验; 尿蛋白定量在 DPP 罗氏生化工作站采用苄索氯铵法检测, 与磺基水杨酸法进行比较。结果 剂量-效应试验显示, 当尿血红蛋白浓度达 0.2 g/L 时即对苄索氯铵法测定尿蛋白产生显著性干扰( $P < 0.05$ ); 临床标本的偏倚试验显示, 不同程度的隐血对苄索氯铵法测定尿蛋白产生明显的正干扰。结论 重视尿隐血阳性和/或含有红细胞的尿液标本, 在采用苄索氯铵法测定尿蛋白时应评价其准确性, 必要时使用磺基水杨酸法进行确认。

**关键词:** 血红蛋白; 苄索氯铵法; 尿蛋白定量; 干扰

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.20.013

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)20-2836-02

## Evaluation of the interference of hemoglobin to the determination of protein in urine by benzethonium chloride

SUN Ningna, LI Hongchun<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou, Jiangsu 221002, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the interference of occult blood in urine (urinary hemoglobin) and to determine the protein in urine by benzethonium chloride. **Methods** By reference to EP7-A2 of CLSI, urine containing different concentrations of hemoglobin were prepared to produce the "dose-effect curve", while 50 cases of clinical urine with varying degrees of occult blood were collected for "clinical sample bias test". Urinary protein was quantified by benzyl chloride in DPP roche comparing with sulfosalicylic acid method. **Results** When the urinary hemoglobin was 0.2 g/L or higher, the determined result of urinary protein of urinary protein would be significantly interfered by benzethonium chloride method. The "clinical sample bias test" showed that clinical urine with different degrees of occult blood caused positive interference to the determination of protein by benzethonium chloride. **Conclusion** Urine samples with occult blood and /or containing red blood cells should be emphasized and evaluate the accuracy when the urinary protein is quantified by benzyl chloride. If necessary, it should be confirmed by sulfosalicylic acid.

**Key words:** hemoglobin; benzethonium chloride method; urinary protein; interference

尿蛋白含量是评价肾小球滤过和肾小管重吸收功能的重要指标。尿蛋白的测定经历了 Esbach 法、Hoffman 称重法、比色法、浊度法、染料结合法、免疫法等, 但每种方法均有一定优缺点, 存在灵敏度高低不同, 对清蛋白、球蛋白反应不一致等问题, 尤其“干扰”是影响尿蛋白测定结果准确性的主要因素, 如尿液的 pH 值、混浊度、细胞、药物等<sup>[1-3]</sup>。本研究参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)《临床生化干扰测试-批准指南(第 2 版)》(EP7-A2)方案评价尿血红蛋白对苄索氯铵法定量测定尿蛋白的干扰性。

### 1 材料与方 法

**1.1 一般材料** (1) 剂量-效应试验标本: 根据试验设计收集临床尿液标本 3 份(各 10 mL), 要求蛋白定性(爱科来干化学)为标本 1(-)、标本 2(±)、标本 3(+), 隐血试验(爱科来干化学)均为阴性, 镜检无红细胞, 外观清、淡黄色, pH 约 6.0。(2) 偏倚试验的临床标本: 根据试验要求选取临床尿液标本共 50 份, 外观清、淡黄色, pH 约 6.0, 分别为隐血(-)、蛋白(-、±、+、++、+++); 隐血(±)、蛋白(-、±、+、++、+++); 隐血(+)、蛋白(-、±、+、++、+++); 隐血(++、+++)、蛋白(-、±、+、++、+++); 隐血(+++)、蛋白(-、±、+、++、+++); 隐血(+++)、蛋白(++、+++); 隐血(+++)、蛋白(+++)各 2 份, 检测前 1 500 r/min 离心 3 min。

**1.2 仪器与试剂** (1) DPP 罗氏生化工作站(德国), Sysmex XE-2100D 全自动血液分析仪(日本); 722 分光光度计(上海分

析仪器厂, 本年度通过徐州市计量局检定)。(2) 苄索氯铵法试剂盒购置于罗氏诊断产品(上海)有限公司; 磺基水杨酸购自(上海)研域生物科技有限公司, 1 mg/mL 人血清蛋白标准液购自(上海)广锐生物科技有限公司。

### 1.3 方 法

**1.3.1 血红蛋白液制备** 挑选临床血常规标本 1 份, 采用生理盐水充分洗涤 5 次, 弃上清液, 使用去离子水破坏红细胞并调整血红蛋白(血细胞分析测定)浓度至 40 g/L。

**1.3.2 配制不同浓度血红蛋白** 配制含不同浓度 0.0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 g/L 的尿液标本。

**1.3.3 尿蛋白浓度测定** 按标准操作程序在 DPP 生化分析仪上使用苄索氯铵法测定尿蛋白, 为平衡漂移, 按顺反顺序测定 3 次, 取均值。采用试剂盒内配带的定标液定标, 检测时所使用的仪器均在控。磺基水杨酸法测定尿蛋白浓度, 参照张耀廷等<sup>[4]</sup>的方法, 为平衡误差, 每份标本测 3 次取均值。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较使用  $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结 果

**2.1 剂量-效应试验** 当血红蛋白浓度达 0.2 g/L 时, 即对苄索氯铵法尿蛋白检测结果产生明显干扰, 与未加血红蛋白的尿蛋白结果比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。且随着尿血红

蛋白浓度的增加,尿蛋白测定值呈不同程度的假性增高,与血红蛋白浓度呈“剂量依赖”趋势。尿液中不同浓度的血红蛋白

对磺基水杨酸法测定尿蛋白未产生明显干扰,与未加血红蛋白的尿蛋白结果比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 1、2。

表 1 不同浓度血红蛋白对茚三酮法尿蛋白测定的干扰( $\bar{x}\pm s$ ,mg/L)

血红蛋白浓度	0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
标本 1	80.5±1.05	85.1±1.75	96.7±2.21*	111.8±4.61*	122.1±3.58*	134.8±6.33*	168.9±11.51*
标本 2	148.6±3.38	153.6±3.53	174±3.40*	191.9±0.56*	203.4±5.63*	220.4±5.40*	235.1±10.40*
标本 3	523.6±4.49	529.1±5.49	537.5±2.78*	551.5±6.20*	567.7±4.48*	580.9±7.51*	596.4±2.36*

注:与未加血红蛋白比较,\* $P<0.05$ 。

表 2 不同浓度血红蛋白对磺基水杨酸法尿蛋白测定的干扰( $\bar{x}\pm s$ ,mg/L)

血红蛋白浓度	0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
标本 1	80.5±5.05	80.9±5.07	81.1±10.21	81.8±10.61	87.3±13.58	90.8±21.33	91.1±21.51
标本 2	148.6±8.38	148.6±8.53	149.0±13.40	148.9±9.56	148.9±15.63	152.3±15.40	159.5±24.40
标本 3	523.6±6.49	524.1±9.49	523.5±12.78	528.5±16.20	533.7±24.48	534.9±17.51	539.4±22.36

2.2 临床标本的偏倚试验 临床不同隐血程度的尿液标本对茚三酮法尿蛋白定量检测,具有明显的正干扰。见图 1。

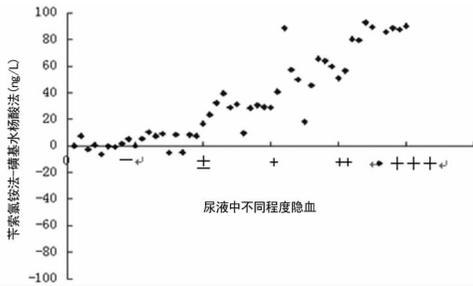


图 1 茚三酮法与磺基水杨酸法测定不同程度隐血的尿蛋白

### 3 讨论

正常尿液中蛋白含量甚微,经肾小球正常滤过的相对小分子质量蛋白质在肾小管几乎全部被重吸收,当炎症、毒素等原因导致肾小球的滤过膜发生改变或肾小管的重吸收能力障碍时,排出体外的尿液有含量不等、相对分子质量不同的蛋白质,可以用于判断肾病发生与否,并可反映肾脏受损程度。有关随机尿蛋白的检测,临床实验室常用定性分析,由于尿液中蛋白质在 24 h 不同时间段排泄率不同,且与运动、情绪、体位等也有一定关系,所以需要 24 h 尿蛋白总量测定,其准确测量的结果有助于临床对肾脏疾病的诊断及疗效观察<sup>[5]</sup>。茚三酮法检测尿液蛋白质的原理是将茚三酮作为蛋白质变性剂,使尿液中蛋白质变性沉淀,在 404 nm 比浊,从而测定蛋白含量,对清蛋白及球蛋白的灵敏度无差异,分析线性达 2.0 g/L 是临床实验室用于测定尿蛋白的成熟方法,在干化学法测定脑脊液的蛋白定量中应用更为广泛。也是 DPP 罗氏生化工作站的配套方法,磺基水杨酸法既可用于尿蛋白定性,也可用于定量,并被推荐为检查尿蛋白的确证试验,但仅限手工操作,不利于自动化,故临床很少采用<sup>[6]</sup>。

当肾脏功能障碍或因其他原因导致泌尿系统受损时,除含量不等的尿蛋白随尿液排出体外,尿液内也会伴随或多或少红细胞出现,镜检红细胞显示数个、数十个,甚至数百个,潜血试验呈阴性或不同程度的阳性。尿红细胞或尿血红蛋白对尿蛋白测定的干扰已早有报道,但大多数是评价尿蛋白的定性检

测<sup>[7-8]</sup>。由于尿蛋白定量分析属于临床化学检测项目,在进行尿蛋白定量测定时即使通过离心可排除红细胞干扰,但常会忽略尿液中血红蛋白的存在。茚三酮法测定尿蛋白的试剂说明书中明确指出,尿隐血阳性对该法有干扰,但无详细注明尿液血红蛋白多少含量会造成多大程度的干扰。本研究参照 CLSI 的 EP7-A2 文件,配制不同血红蛋白浓度的尿液标本,结果表明,血红蛋白达 0.2 g/L 时(尿液外观无明显改变,潜血试验“+”)即对茚三酮法测定尿蛋白造成明显的正干扰,且随血红蛋白浓度的增加呈明显的正相关性。

尿蛋白定量检测是临床评价肾功能的重要指标之一,准确的测定结果有助于临床对肾脏疾病的辅助诊断、疗效观察及预后判断。当尿液合并有红细胞或隐血试验呈阳性时,一定要重视其对尿蛋白分析结果的干扰,尤其是尿蛋白定量测定。

### 参考文献

- [1] 张会芬. 改良的磺基水杨酸-硫酸钠比浊法测定脑脊液蛋白的实验室评价[J]. 检验医学, 2011, 26(5): 343-345.
- [2] 苗静, 王学晶, 徐国宾. 邻苯三酚红钼络合法与双缩脲比色法测定嘌呤霉素肾病大鼠尿中总蛋白浓度的比较[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(4): 553-555.
- [3] 周华胜, 李土珍. 两种不同方法检测尿蛋白的比较分析[J]. 河北医学, 2010, 16(10): 1276-1278.
- [4] 张耀廷, 郭岩, 辛暨华, 等. 应用磺基水杨酸法测定蛋白定量[J]. 中国生物制品学杂志, 2001, 14(4): 247-248.
- [5] 李变, 李南方, 张菊红, 等. 高血压患者不同体位下的尿液分析[J]. 中国医学创新, 2013, 10(16): 3-5.
- [6] Seehusen DA, Reeves MM, Fomin DA. Cerebrospinal fluid analysis[J]. Am Fam Physician, 2003, 68(6): 1103-1108.
- [7] 蒋翠霞, 师勇, 余秀瑾, 等. 尿干试纸条检测与尿镜检结果比较分析[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(23): 88-89.
- [8] 苏庆军, 韩晔晔, 陈建国, 等. 高浓度血红蛋白对尿蛋白干化学检测的影响[J]. 山西医学杂志, 2008, 37(7): 650-651.