· 论 著 ·

两种方法对低清蛋白血症患者糖化清蛋白检测的影响

蔡德佩^{1,2}, 詹远长², 许毅², 王聪¹, 胡健¹, 王晓琴^{1△}

1. 西安交通大学第一附属医院检验科, 陕西西安 710061; 2. 西安航天总医院检验科, 陕西西安 710041

摘要:目的 探讨溴甲酚绿(BCG)法与改良溴甲酚紫(mBCP)法对低清蛋白血症患者糖化清蛋白(GA)检测的影响。方法 选取西安交通大学第一附属医院 2017 年 1 月至 2018 年 12 月低清蛋白血症的患者 21 201 例,检测其 GA、清蛋白_{BCG}、清蛋白_{mBCP}的水平及清蛋白/球蛋白,分别计算 GA_{BCG}、GA_{mBCP},分析比较两种方法检测结果的差异。结果 在低清蛋白血症患者中,BCG 法比 mBCP 法检测清蛋白平均水平高约 2.22 g/L, GA%_{BCG} 低于 GA%_{mBCP},平均偏差为 -0.92%;随着清蛋白水平的降低,清蛋白_{BCG}与清蛋白_{mBCP}平均偏倚均增加;不同清蛋白水平中,两种方法检测得到的 GA%一致性好, Kappa=0.783, GA%_{BCG}与 GA%_{mBCP}有较强一致性;多重线性回归分析结果显示 GA 水平,血清清蛋白/球蛋白是两种方法 GA%产生偏差的影响因素。结论 在低清蛋白血症患者 GA 水平的检测中,与 mBCP 法比较,BCG 法低估患者 GA%的真实水平,其 GA%多低于参考范围,因此糖尿病伴低清蛋白血症患者的 GA 水平的检测可能更适宜于采用 mBCP 法。

关键词:低清蛋白血症; 糖化清蛋白; 溴甲酚绿; 溴甲酚紫; 清蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.01.026 中图法分类号:R-331

文章编号:1673-4130(2021)01-0112-04

文献标志码:A

Effects of two methods on detection of glycosylated albumin in patients with hypoalbuminemia

CAI Depei^{1,2}, ZHAN Yuanchang², XU Yi², WANG Cong¹, HU Jian¹, WANG Xiaoqin^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Xi'an Aerospace General Hospital, Xi'an, Shaanxi 710041, China

Abstract: Objective To investigate the effect of bromocresol green (BCG) and modified bromocresol violet (mBCP) on the detection of glycosylated albumin (GA) in patients with hypoalbuminemia. **Methods** A total of 21 201 patients with hypoalbuminemia in the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University from January 2017 to December 2018 were selected. The levels of GA, albumin_{BCG}, albumin_{mBCP} and albumin/globulin were detected. GA_{BCG} and GA_{mBCP} were calculated respectively, and the differences between the two methods were analyzed and compared. **Results** In patients with hypoalbuminemia, the average level of albumin detected by BCG method was 2.22 g/L, which was higher than that by mBCP method. The average deviation of GA%_{BCG} was -0.92%, which was lower than that of GA%_{mBCP}. With the decrease of albumin level, the average bias of albumin_{BCG} and albumin_{mBCP} increased; in different albumin levels, the consistency of GA% detected by two methods was good, Kappa=0.783, GA%_{BCG} and GA%_{mBCP} had strong consistency. Multiple linear regression analysis showed that the level of glycosylated albumin and albumin/globulin were the influencing factors of GA% deviation between the two methods. **Conclusion** In the detection of GA in patients with hypoalbuminemia, BCG method underestimates the true level of GA% in patients with hypoalbuminemia, and its GA% is lower than the reference range. Therefore, the detection of GA in diabetic patients with hypoalbuminemia may be more suitable for mBCP method.

Key words: hypoalbuminemia; glycosylated albumin; bromocresol green; bromocresol violet; albumin

糖化清蛋白(GA)是清蛋白与葡萄糖结合而成的糖化蛋白质,能反映糖尿病患者检测前 2~3 周的平均血糖水平,对短期内平均血糖水平变化比糖化血

蛋白(HbA1c)更敏感,在一些特殊情况下,如透析性的贫血、肝病、糖尿病合并妊娠、降糖药物调整期等,GA 更能准确反映短期内的平均血糖水平。GA%是

作者简介:蔡德佩,女,主管技师,主要从事临床生化检验相关研究。△ 通信作者, E-mail: wangxiaoqinh@hotmail.com。

本文引用格式:蔡德佩,詹远长,许毅,等.两种方法对低清蛋白血症患者糖化清蛋白检测的影响[J].国际检验医学杂志,2021,42(1):112-115.

GA 在清蛋白中所占的比例,若将 GA% 纳入糖尿病的诊断标准,必然会提高糖尿病患者的筛查、诊断、监测治疗的水平。但在这之前要先解决 GA% 检测结果标准化的问题,并提高各厂家试剂测定结果的一致性。目前,我国临床常用溴甲酚绿 (BCG) 检测清蛋白。而计算 GA% 时常规使用改良溴甲酚紫 (mBCP) 检测清蛋白,其价格昂贵且标准品难以获得。为临床使用方便及成本考虑,本研究将尝试在低清蛋白血症患者中用 BCG 与 mBCP 法分别检测清蛋白,分析 GA% 的变化情况,评估 BCG 法替代 mBCP 法检测清蛋白用于计算 GA% 结果的可行性,并研究影响 GA% 检测结果的因素。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2017 年 1 月至 2018 年 12 月在西安交通大学第一附属医院就诊同时接受 GA 与肝功能检查的低清蛋白血症患者的数据。纳入标准:以 BCG 法清蛋白(清蛋白_{BCG}) < 35 g/L 判定为低清蛋白血症,同一患者多次检查选取第 1 次检查结果。排除标准:根据血清指数,剔除脂血、溶血、黄疸标本结果。最终有 21 201 例患者纳入本研究,男 12 808 例,女 8 393 例,平均年龄(56.30 ± 17.06)岁。

1.2 仪器与试剂 GA 检测专用试剂及配套清蛋白试剂、校准品、质控品购自日本旭化成株式会社;总蛋白、清蛋白_{BCG} 试剂及配套校准品购自日本和光纯药工业株式会社;均在 LABOSPECT 008 AS 全自动生化分析仪上检测,仪器购自日本日立公司。

1.3 方法 收集研究对象的年龄、性别、同一份生化标本中的总蛋白、清蛋白_{BCG}、mBCP 法清蛋白(清蛋

白_{mBCP})、清蛋白/球蛋白、GA 水平,计算 GA%_{BCG}、GA%_{mBCP}。清蛋白偏差 $B_{清蛋白} = (清蛋白_{BCG} - 清蛋白_{mBCP}) / 清蛋白_{mBCP}$,糖化清蛋白偏差 $B_{GA\%} = (GA\%_{BCG} - GA\%_{mBCP}) / GA\%_{mBCP}$ 。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析,计量资料符合正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用双尾不配对 *t* 检验;回归方程采用简单线性回归;分别对两种方法的清蛋白数据、GA% 进行组内相关系数 (ICC) 分析;对 GA% 水平分组后进行诊断试验 Kappa 一致性分析;对 GA% 偏差的影响因素进行多重线性回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种不同方法检测清蛋白值的差异比较 清蛋白_{BCG} 与清蛋白_{mBCP} 平均偏差为 2.22 g/L,平均偏倚为 8.92%,线性相关系数 (*r*) 为 0.82, ICC 为 0.92。各组中清蛋白_{BCG} 与清蛋白_{mBCP} 水平比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。两种方法在不同分组中可重复性较好,一致性较强。见表 1。

2.2 两种不同方法检测清蛋白计算 GA% 的结果分析 所有低清蛋白血症标本的 GA%_{BCG} 与 GA%_{mBCP} 比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),平均偏差为 -0.92%,平均偏倚为 -5.97%。GA%_{mBCP} 均值水平高于 GA%_{BCG}。且随着低清蛋白血症程度的加重,两种方法计算 GA% 平均偏倚增大。两种方法计算 GA% 在不同分组中 ICC 均 > 0.75,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),可重复性好,*r* 均 > 0.95,一致性好。见表 2。

表 1 两种不同方法检测清蛋白值的差异比较

清蛋白水平 (g/L)	<i>n</i>	清蛋白 _{BCG} ($\bar{x} \pm s, g/L$)	清蛋白 _{mBCP} ($\bar{x} \pm s, g/L$)	<i>t</i>	<i>P</i>	平均偏差 (g/L)	平均偏倚 (%)	回归方程	<i>r</i>	ICC
>28~<35	16 956	32.15 ± 1.89	30.15 ± 2.66	165.50	<0.05	2.00	7.02	$Y = 0.78X + 8.27$	0.82	0.87
>21~28	3 646	25.68 ± 1.81	22.75 ± 2.53	104.30	<0.05	2.93	13.59	$Y = 0.58X + 15.62$	0.77	0.72
>15~21	519	18.63 ± 1.67	14.59 ± 2.43	67.37	<0.05	4.04	29.86	$Y = 0.53X + 10.77$	0.84	0.78
≤15	80	13.56 ± 1.07	8.56 ± 1.73	35.85	<0.05	4.99	64.01	$Y = 0.43X + 7.76$	0.69	0.62
合计	21 201	30.63 ± 3.78	28.42 ± 4.61	194.50	<0.05	2.22	8.92	$Y = 0.77X + 9.15$	0.82	0.92

表 2 两种不同方法检测清蛋白计算 GA% 的结果

清蛋白水平 (g/L)	<i>n</i>	GA% _{BCG} (%)	GA% _{mBCP} (%)	<i>P</i>	平均偏差 (%)	平均偏倚 (%)	回归方程	<i>r</i>	ICC
>28~<35	16 956	14.80 ± 4.12 ^a	15.61 ± 4.39	<0.05	-0.81	-5.07	$Y = 0.93X + 0.33$	0.986	0.985
>21~28	3 646	13.78 ± 5.03 ^a	15.18 ± 5.64	<0.05	-1.40	-8.96	$Y = 0.88X + 0.43$	0.986	0.979
>15~21	519	8.33 ± 5.19 ^a	9.72 ± 6.37	<0.05	-1.38	-13.06	$Y = 0.81X + 0.50$	0.988	0.967
≤15	80	5.14 ± 2.55 ^a	6.22 ± 3.52	<0.05	-1.08	-15.01	$Y = 0.72X + 0.69$	0.988	0.939
合计	21 201	14.43 ± 4.48 ^a	15.36 ± 4.81	<0.05	-0.92	-5.97	$Y = 0.92X + 0.33$	0.985	0.982

2.3 GA%_{mBCP} 与 GA%_{BCG} 诊断结果的一致性分析 以 GA%_{mBCP} ≥ 17.1% 判断为阳性, GA%_{mBCP} < 17.1% 判断为阴性, 对 GA%_{BCG} 结果分组, 经诊断试验 Cohen's Kappa 系数分析, Kappa = 0.783 (P < 0.05), 两种清蛋白方法计算 GA% 结果有较强一致性。见表 3。

表 3 GA%_{mBCP} 与 GA%_{BCG} 诊断结果的一致性分析 (n)

GA% _{BCG}	GA% _{mBCP}		总数
	+	-	
+	3 451	33	3 484
-	1 436	16 281	17 717
总数	4 887	16 314	21 201

2.4 不同方法计算 GA% 偏差的多重线性回归分析 采用多重线性回归, 纳入年龄、性别、GA 水平、清蛋白/球蛋白。已验证各观察值之间相互独立, 残差近似正态分布。回归模型有统计学意义 (F = 2 084.315, P < 0.05), 调整 R² = 0.164。纳入模型的 4 个自变量对 BGA% 的影响均有统计学意义 (P < 0.05)。见表 4。

表 4 不同方法计算 GA% 偏差的多因素回归分析

变量	r	标准误	标化系数
截距	14.288	0.188	-
年龄	0.002	0.002	0.006
性别	-0.124	0.059	-0.013
GA 水平	-0.587	0.018	-0.211
清蛋白/球蛋白	-4.811	0.090	-0.338

注: - 为此项无数据。

3 讨 论

目前 GA 的检测方法有免疫分析法、高效液相色谱法、拉曼光谱法、酶法等^[1]。由于不同方法对 GA 的定义及检测的目标分子不同, 使不同方法的测量结果及参考区间有很大差别, 在临床实践中难以得到广泛应用。日本旭化成制药株式会社研制了 GA 液态酶法试剂^[2], 用酮胺氧化酶法检测 GA 水平, 该试剂有效排除了内源性氨基酸干扰, 同时用 mBCP 法测定清蛋白, 增加了清蛋白检测的特异性。最终用 GA% 反映 GA 水平。UENO 等^[3]报道, 对于营养不良患者的清蛋白检测, 与 mBCP 法比较, BCG 法检测的清蛋白的平均水平偏高, mBCP 法优于 BCG 法。目前 mBCP 法的人源质控血清在国内制备仍存在一定困难, 国内清蛋白的检测仍以 BCG 法较常用。本研究对 21 201 例低蛋白血症患者标本中的 BCG 法、mBCP 法检测清蛋白、GA 水平进行了回顾性分析, 分别计算 GA%_{BCG}、GA%_{mBCP}, 以评估两种检测方法对

GA% 的影响。

本研究中在低清蛋白血症患者中 BCG 法检测清蛋白的平均水平高于 mBCP 法, 平均偏差为 2.22 g/L, 平均偏倚为 8.92%, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。本研究在增大样本量的情况下, 与 VAN 等^[4]报道的研究结果较接近。研究表明, 在膜性肾病和肾病综合征患者中, BCG 法比 mBCP 法检测清蛋白的平均水平高 2.1 g/L^[4]。陈智平等^[5]报道 BCG 法比 mBCP 法检测清蛋白的平均水平高 3.2 g/L。刘非等^[6]指出清蛋白水平越低, BCG 法检测清蛋白与免疫比浊法检测清蛋白差值越大, 建议不宜用 BCG 法检测肾病综合征、孕产妇和低蛋白血症患者的清蛋白。随着清蛋白水平的降低, 平均偏倚明显增大; 当清蛋白 ≤ 15 g/L 时, 平均偏倚高达 64.01%, 明显高于我国行业标准^[1]。冯品宁等^[7]采用免疫透射比浊法和临床常规使用的 BCG 法分析了 1 000 份清蛋白标本发现, 当清蛋白水平低于 35 g/L 时, BCG 法检测清蛋白平均水平明显偏高, 清蛋白水平越低, 偏差越大, 最大偏差达 23.25%, 两种方法在不同分组中一致性较强。BCG 法与 mBCP 法在低清蛋白水平的检测中存在偏倚较大的情况, 但两者可以尝试使用校正公式对 BCG 法结果进行标准化, 使其更接近清蛋白真实值^[8]。

本研究表明, 在低清蛋白血症患者中, 随着清蛋白水平的明显降低, GA% 平均水平呈降低趋势。GA% 虽排除了清蛋白水平的影响, 但当患者体内清蛋白水平较低, 此时被糖基化的清蛋白相对减少, 从而导致 GA% 降低, 在清蛋白低于 21 g/L 时, GA% 明显低于试剂说明书提供的参考范围下限。GA%_{BCG} 与 GA%_{mBCP} 在低蛋白血症患者不同清蛋白水平中比较, 差异均有统计学意义 (P < 0.05)。GA%_{mBCP} 与 GA%_{BCG} 比较, 平均偏差为 0.92%, 平均偏倚为 5.97%。两种方法计算 GA% 在不同清蛋白水平中 ICC 均 > 0.75, 可重复性好, r > 0.95, 一致性好。通过诊断试验 Cohen's Kappa 系数分析, Kappa = 0.783 (P < 0.05), 说明 GA%_{BCG} 与 GA%_{mBCP} 的结果有较强一致性。为了消除 BCG 法在清蛋白水平较低时对 GA% 的影响, 可以通过公式进行校正。大量研究证实 BCG 法容易受非清蛋白蛋白质的非特异性干扰, 而 mBCP 法反应最适 pH 值接近球蛋白等电点, 非特异性反应少^[9-13]。BCG 法结果较 mBCP 法偏高, 血清球蛋白是导致偏差的重要因素, 其中 α 球蛋白的影响可能最大, 氨基甲酰化、尿素素、α 酸性糖蛋白、触珠蛋白等也是潜在影响因素。在本次 BGA% 的多重线性回归分析中, 清蛋白/球蛋白的 r 为 -4.811, 即预测当清蛋白/球蛋白降低时, 两种方法计算 GA% 的偏差将增大。提示血清清蛋白/球蛋白是两种方法计算

GA%存在偏差的重要因素。

本研究纳入的 21 201 例患者,均为低清蛋白血症患者。当清蛋白低于 21 g/L 时,使用 BCG 法可能比 mBCP 法高估患者真实清蛋白值,分别用于计算 GA%,BCG 法可能会低估患者真实 GA%。但两者的相关性强,诊断 Kappa 值为 0.783。目前本研究在 GA%计算中,清蛋白的检测结果是使用日本旭化成株式会社 GA 配套 mBCP 法清蛋白试剂,而常规肝功能项目的清蛋白检测为 BCG 法及其配对试剂。随着自动化程度的加深,若在同一份标本中同时有肝功能的清蛋白检测、GA 检测,可以尝试先全部用一种相对廉价、稳定的 BCG 法检测清蛋白,同时将其用于标本 GA%的计算。当标本结果清蛋白低于 21 g/L 时,触发室内复检规则,仪器用 mBCP 法自动重新检测该标本清蛋白,并对结果进行修正。这样不仅可以节约成本,也可以在实际应用过程中,进一步发现问题,有利于推进我国 GA%检测标准化的工作。有报道称肝素锂血浆可能降低 BCG 法检测清蛋白的水平^[14],本研究的所有标本的收集均不使用抗凝剂,故不存在上述影响。ONO 等^[15]报道治疗用的大剂量青霉素 G 可能降低 mBCP 法检测结果。本研究对 GA%影响因素的探讨中,未能收集到该方面的资料,因此,青霉素 G 对 GA%_{mBCP} 的影响有待进一步验证。

在低清蛋白血症患者中,BCG 法与 mBCP 法检测清蛋白计算 GA%时,BCG 法可能比 mBCP 法低估患者 GA%水平,但其 GA%多在参考范围以下,这种有差异的低水平 GA%,对临床血糖检测及糖尿病诊断治疗的影响有待继续研究。

综上所述,在评估糖尿病伴低清蛋白血症患者血糖水平时,应结合患者血糖、HbA1c 等指标综合评估患者真实血糖水平,避免该类患者因 BCG 法而低估 GA%真实水平。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部. 临床生物化学检验常规项目分析质量指标: WS/T 403-2012[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.

[2] KOUZUMA T, UEMASTU Y, USAMI T, et al. Study of glycosylated amino acid elimination reaction for an improved enzymatic glycosylated albumin measurement method [J]. Clin Chim Acta, 2004, 346(2): 135-143.

[3] UENO T, HIRAYAMA S, ITO M, et al. Albumin concentration determined by the modified bromocresol purple method is superior to that by the bromocresol green method for assessing nutritional status in malnourished patients with inflammation[J]. Ann Clin Biochem, 2013, 50(Pt 6): 576-584.

[4] VAN D A, RIJPMAN S R, VINK C H, et al. The bias between different albumin assays may affect clinical decision-making[J]. Kidney Int, 2019, 95(6): 1514-1517.

[5] 陈智平, 秦雪, 陈兴财, 等. 溴甲酚绿法与溴甲酚紫法检测血清清蛋白的结果比较[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(10): 940-941.

[6] 刘非, 邱先桃, 杨丽媛, 等. 溴甲酚绿法检测低浓度血清清蛋白的偏差分析和临床诊断应用的局限性[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(3): 30-33.

[7] 冯品宁, 姚真荣, 徐鸿绪, 等. 免疫透射比浊法与溴甲酚绿染色法测定血清白蛋白浓度 1 000 例样本方法学比较及倚倚评估[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(15): 2231-2234.

[8] DATI F, SCHUMANN G, THOMAS L, et al. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP Reference Material (CRM 470)[J]. Eur J Clin Clin Biochem, 1996, 34: 517-520.

[9] 史德宝, 吕礼应. 血清白蛋白检测方法对糖化白蛋白的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2015, 50(12): 1805-1808.

[10] XU Y, WANG L, WANG J, et al. Serum globulins contribute to the discrepancies observed between the bromocresol green and bromocresol purple assays of serum albumin concentration[J]. Br J Biomed Sci, 2011, 68(3): 120-125.

[11] UENO T, HIRAYAMA S, SUGIHARA M, et al. The bromocresol green assay, but not the modified bromocresol purple assay, overestimates the serum albumin concentration in nephrotic syndrome through reaction with α_2 -macroglobulin[J]. Ann Clin Biochem, 2016, 53(Pt 1): 97-105.

[12] DELANGHE S, BIESEN W V, VELDE N V, et al. Binding of bromocresol green and bromocresol purple to albumin in hemodialysis patients[J]. Clin Chem Lab Med, 2018, 56(3): 436-440.

[13] ALCORTA M D, ALVAREZ P C, CABETAS R N, et al. The importance of serum albumin determination method to classify patients based on nutritional status[J]. Clin Nutr ESPEN, 2018, 25(1): 110-113.

[14] MENG Q H, KRAHN J. Lithium heparinised blood-collection tubes give falsely low albumin results with an automated bromocresol green method in haemodialysis patients[J]. Clin Chem Lab Med, 2008, 46(3): 396-400.

[15] ONO M, AOKI Y, MASUMOTO M, et al. High-dose penicillin G-treatment causes underestimation of serum albumin measured by a modified BCP method[J]. Clin Chim Acta, 2009, 407(1/2): 75-76.