

网络出版时间:2015-11-18 10:12:35 网络出版地址: http://www.cnki.net/KCMS/detail/34.1065.R.20151118.1012.046.html

◇技术与方法◇

血清白蛋白检测方法对糖化白蛋白的影响

史德宝, 吕礼应

摘要 随机抽取 306 份不同白蛋白(Alb)浓度的新鲜血清标本,分别用溴甲酚绿法(BCG)、改良溴甲酚紫法(mBCP)、免疫比浊法(ITA)检测 Alb 浓度,液态酶法检测糖化白蛋白(GA),并计算 GA 值 [$GA\%(\%) = GA/Alb \times 100\%$]。正常 Alb 浓度($Alb \geq 40$ g/L)时,BCG 与 mBCP 法、BCG 与 ITA 法、mBCP 与 ITA 法检测结果比较,临床差异不明显,而且 $GA\%_{BCG}$ 与 $GA\%_{mBCP}$ 比较,差异无统计学意义($P = 0.537$);低 Alb 浓度($Alb < 40$ g/L)时,BCG 法分别与 mBCP、ITA 法比较差异有统计学意义($P < 0.01$), $GA\%_{BCG}$ 明显低于 $GA\%_{mBCP}$ ($P < 0.01$)。故正常 Alb 浓度时,BCG、mBCP 与 ITA 法三者结果差异无明显临床意义,各法用于 GA% 计算无明显差异;但低 Alb 浓度时, mBCP 与 ITA 法二者一致性优于 BCG 与 ITA 法,若使用 BCG 法则 GA% 结果可能被低估。

关键词 糖化白蛋白; 溴甲酚绿; 改良溴甲酚紫; 免疫比浊法
中图分类号 R 446.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)12-1805-04

糖尿病(diabetes mellitus, DM)患病率逐年升高,持续性高血糖可促进 DM 并发症(如冠心病、视网膜病、慢性肾病等)的发生发展,而良好的血糖控制可有效降低 DM 并发症的发生率。目前,常用于 DM 监控的指标有:空腹血糖、餐后 2 h 血糖、果糖胺、糖化血红蛋白(glycated hemoglobin, HbA_{1c})、糖化白蛋白(glycated albumin, GA)等。研究^[1]表明,GA 不仅在 DM 诊断与监控上可作为血糖和 HbA_{1c} 的有效补充,并且在评价短期血糖波动上要优于 HbA_{1c} ,与 DM 并发症密切相关。我国常用溴甲酚绿(bromocresol green, BCG)法检测白蛋白(albumin, Alb),为临床使用方便,笔者尝试使用 BCG 法代替改良溴甲酚紫(modified bromocresol purple, mBCP)检测 Alb 用于 GA% 的计算。文献^[2]表明,在低 Alb 浓度时,BCG 法与 mBCP 法检测 Alb 结果差异显著。

2015-09-20 接收

基金项目:国家高技术研究发展计划(863 计划)(编号:2011AA02A111)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院检验科,合肥 230022

作者简介:史德宝,男,硕士研究生;

吕礼应,男,主任技师,硕士生导师,责任作者, E-mail: liy-
inglv@163.com

为鉴别 BCG 法与 mBCP 法检测 Alb 结果应用于 GA% 检测结果的准确性,该研究选用特异性好的免疫比浊法(immunoturbidimetric assay, ITA)检测 Alb 作为参比依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与主要试剂 Modular DPP 全自动生化分析仪、 Alb_{BCG} 、 Alb_{ITA} 检测试剂及校准品(瑞士 Roche 公司);Lyphochek 质控品(美国 Bio-Rad 公司,批号:Level1 14431、Level2 14432);Lucica GA-L 检测试剂盒及配套校准品、质控品(日本旭化成制药株式会社,批号:1301A、1302A)。使用酮胺氧化酶法检测 GA, mBCP 法检测 Alb,两者之比表示 GA 值 [$GA\%(\%) = GA/Alb \times 100\%$]。

1.2 实验方法与分组 检验标本来源于安徽医科大学第一附属医院体检、住院患者的新鲜血清。随机选取 132 份不同 Alb 浓度的新鲜血清样本,其中男 75 例,女 57 例;年龄 0~95 岁,中位年龄 52 岁。按 Alb 浓度(BCG 法)将血清分组: $Alb < 40$ g/L ($n = 78$)、 $Alb \geq 40$ g/L ($n = 54$)。同时用 BCG 和 mBCP 法测定 Alb,比较不同 Alb 浓度时两种方法的差异及 $GA\%_{BCG}$ 、 $GA\%_{mBCP}$ 与 $GA\%_{HPLC}$ [根据 Lucica GA-L 试剂盒说明书 $GA\%_{mBCP}$ 值回溯至高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)检测结果, $GA\%_{HPLC} = GA\%_{mBCP}/1.14 + 2.9$] 各值之间的差异;随机选取 174 份新鲜血清标本,其中男 101 例,女 73 例;年龄 10~95 岁,中位年龄 60 岁。按 Alb 浓度(BCG 法)将血清分组: $Alb < 40$ g/L ($n = 95$)、 $Alb \geq 40$ g/L ($n = 79$),比较两组 BCG、mBCP 与 ITA 法检测 Alb 结果的差异。标本采集、处理与检测严格按本院 ISO15189 标准操作程序要求进行。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行分析,正态性检验 $P > 0.05$ 表示数据呈正态分布。正态分布资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数间比较采用配对 t 检验;偏态分布资料用中位数(四分位数) [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示,多组间变量比较采用秩变换后的方差分析,两两比较使用 LSD 法;相关性采用 Pearson 相关

分析; 线性回归采用简单线性回归分析。

2 结果

2.1 BCG 法与 mBCP 法检测 Alb 结果比较

2.1.1 BCG 法与 mBCP 法检测 Alb 结果及相关性分析 132 份患者血清样本, 同时用 BCG 和 mBCP 法测定 Alb, mBCP 与 BCG 法结果相关系数及回归方程见图 1。mBCP 与 BCG 法检测结果显示, 当血清 Alb < 40 g/L 时, mBCP 与 BCG 法差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 平均偏倚 > 10%, 明显高于我国行业标准 [WS/T 403 - 2012, 总误差 (total error, TE) < 6%] $1/2$ TE; 当血清 Alb \geq 40 g/L 时, mBCP 与 BCG 法比较差异有统计学意义, 但其平均偏倚为 2.27% ($< 1/2$ TE), 临床差异不明显。见表 1。

表 1 BCG、mBCP 法检测不同 Alb 浓度结果的差异比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Alb _{BCG} (g/L)	Alb _{mBCP} (g/L)	平均差值 (g/L)	平均偏倚 (%)	r 值
Alb \geq 40 g/L	54	47.79 \pm 4.20	46.94 \pm 4.93	0.85	2.27	0.991
Alb < 40 g/L	78	29.98 \pm 5.32	26.85 \pm 5.84	3.13	11.09	0.974
合计	132	39.64 \pm 8.53	37.93 \pm 9.72	2.23	8.79	0.994

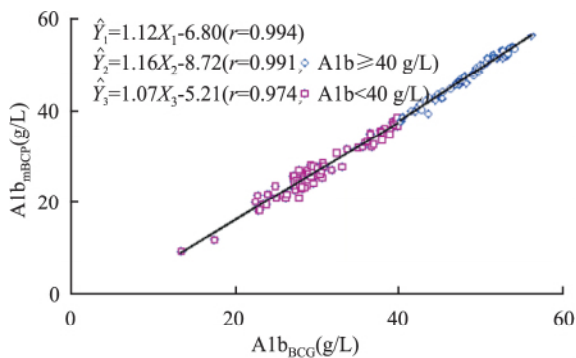


图 1 BCG 和 mBCP 法分别检测不同 Alb 浓度结果的相关性

2.1.2 BCG、mBCP 法检测 Alb 的结果分别用于 GA% 计算的结果分析 三组间比较, 采用秩变换后的方差分析, GA%_{BCG}、GA%_{mBCP} 和 GA%_{HPLC} 不全相

等, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。两两比较结果显示: Alb \geq 40 g/L 时, GA%_{BCG} 与 GA%_{mBCP} 比较差异无统计学意义, GA%_{mBCP}、GA%_{BCG} 分别与 GA%_{HPLC} 比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$); Alb < 40 g/L 时, GA%_{BCG} 与 GA%_{mBCP}、GA%_{BCG} 与 GA%_{HPLC}、GA%_{mBCP} 和 GA%_{HPLC} 比较, 差异有统计学意义 (P 值为 0.023、< 0.01、0.025)。见表 2。

2.2 BCG 法、mBCP 法与 ITA 法检测 Alb 结果比较 三组间比较, 采用秩变换后的方差分析, Alb_{BCG}、Alb_{mBCP} 和 Alb_{ITA} 不全相等, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。两两比较结果显示: Alb \geq 40 g/L 时, BCG、mBCP 分别与 ITA 法检测结果比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 但平均偏倚均 < $1/2$ TE (2.62%、2.54%), 临床差异不明显, BCG、BCP 与 ITA 法三者一致性均较好。但 Alb < 40 g/L 时, BCG 法检测结果较 ITA 法高 ($P < 0.01$), 两法检测结果平均偏倚达 8.02%; 而 BCP 法与 ITA 法检测结果平均偏倚为 2.94%, 差异有统计学意义, 但临床差异不明显。即低 Alb 浓度时, mBCP 与 ITA 法二者一致性优于 BCG 与 ITA 法。见表 3、4。

3 讨论

目前已知的 GA 检测方法有离子交换法、染色法、亲和色谱法、HPLC 等, 均因精密度低和 (或) 检测时间长等缺点未能在临床上广泛应用^[3]。Kouzuuma et al^[4] 在 GA 干性酶法检测的基础上提出液态酶法检测, 并于 2004 年进行改进, 增加了酮胺氧化酶去除内源性氨基酸干扰, 同时改良 BCP 法测定 Alb, 增加了检测特异性。

BCG 与 mBCP 法相关性良好。但 Alb < 40 g/L 时, BCG 和 mBCP 法检测 Alb 结果平均偏倚 > 10%, 明显高于我国行业标准^[5] $1/2$ TE, 临床差异明显; 而 Alb > 40 g/L 时, 两法结果平均偏倚 < 3%, 临床差异不明显。国内相关研究^[6] 表明, BCP 法比 BCG 法检

表 2 不同 Alb 检测方法 GA% 的差异比较 [% M(P_{25} P_{75})]

组别	GA% _{BCG}	GA% _{mBCP}	GA% _{HPLC}	F 值	P 值
Alb \geq 40 g/L	11.42 (10.87, 13.00)	11.59 (10.94, 13.24)	13.07 (12.50, 14.51)	15.3	< 0.01
Alb < 40 g/L	11.23 (9.41, 13.36)	12.54 (10.39, 15.71)	13.91 (12.01, 16.68)	10.3	< 0.01
合计	11.37 (9.99, 13.21)	11.96 (10.80, 14.21)	13.40 (12.38, 15.36)		

表 3 三种方法检测 Alb 结果比较 [g/L M(P_{25} P_{75})]

组别	Alb _{BCG}	Alb _{mBCP}	Alb _{ITA}	F 值	P 值
Alb \geq 40 g/L	45.20 (43.60, 47.10)	44.78 (42.03, 46.74)	45.25 (42.99, 47.81)	151.3	< 0.01
Alb < 40 g/L	34.10 (30.20, 38.10)	32.58 (27.73, 35.90)	31.67 (27.86, 36.42)	56.5	< 0.01
合计	40.45 (33.68, 44.93)	39.29 (31.03, 44.17)	39.37 (31.26, 44.93)		

表4 三种方法检测 Alb 结果差异的两两比较

组别	BCG 与 ITA 法		mBCP 与 ITA 法	
	线性方程	平均偏倚(%)	线性方程	平均偏倚(%)
Alb \geq 40 g/L	$\hat{y}=0.74X+11.81$	2.62	$\hat{y}=0.84X+6.45$	2.54
Alb<40 g/L	$\hat{y}=0.88X+5.91$	8.02	$\hat{y}=0.96X+1.28$	2.94

测结果约低 3.2 g/L。本研究结果显示: mBCP 法检测结果在 Alb <40、Alb \geq 40 g/L 中比 BCG 法分别低 3.13、0.85 g/L。在低 Alb 浓度时,两法差异显著,故不建议用单一的线性方程将 BCG 法检测结果转换为 BCP 检测结果应用于 GA% 计算。低 Alb 浓度时, mBCP 与 ITA 法有较好的一致性,该结论与文献^[7]报道一致。BCG 与 mBCP 法检测 Alb 结果的差异,主要是因为 mBCP 法反应最适 pH 值接近球蛋白等电点,非特异性反应少。低 Alb 血症时,Alb 水平低导致球蛋白比例相对增高,BCG 非特异性反应增高,使得 Alb 测定值高于其实际浓度,因而发生 GA% 被低估的情况。在比较 BCG、mBCP 法检测结果应用于 GA% 计算时,Alb \geq 40 g/L 时,GA%_{BCG} 与 GA%_{mBCP} 间差异无统计学意义;而 Alb <40 g/L 时,GA%_{mBCP} 和 GA%_{BCG} 比较差异有统计学意义,其原因可能是低 Alb 时,BCG 法非特异性反应多而导致 GA% 结果偏低。

GA% 是评价 DM 短期血糖控制及药物疗效的较好指标,与 DM 慢性并发症密切相关。近年来,国内也有学者尝试评估其作为 DM 筛查及诊断指标的性能^[8],因此 GA% 被低估可能导致 DM 的漏诊,在病程监控、判断预后上给临床造成错误的导向。而 GA 水平偏低可能见于甲状腺功能亢进、糖皮质激素过量、肥胖者、吸烟者等^[9-12]。

综上所述,GA% 是 GA 与 Alb 的比值,消除了 Alb 浓度的变化对 GA% 检测的影响。使用厂家配套的 mBCP 法检测 Alb 应用于 GA% 计算,准确性更好。如果使用 BCG 法检测 Alb,要注意低 Alb 时导致 GA% 被低估的情况。GA 是一个很有前途的 DM 监控指标,乃至诊断标准,但目前 GA 标准化还未开始,虽有多中心的正常参考区间调查^[13-14],但仍需大量数据验证。

参考文献

- [1] Juraschek S P, Steffes M W, Selvin E. Associations of alternative markers of glycemia with hemoglobin A(1c) and fasting glucose [J]. Clin Chem, 2012, 58(12): 1648-55.
- [2] 贾珂珂,李国权,张捷. 酮胺氧化酶法测定糖化白蛋白的评价[J]. 中国实验诊断学, 2010, 14(10): 1620-3.
- [3] Paroni R, Ceriotti F, Galanello R, et al. Performance characteristics and clinical utility of an enzymatic method for the measurement of glycated albumin in plasma [J]. Clin Biochem, 2007, 40(18): 1398-405.
- [4] Kouzuma T, Uemastu Y, Usami T, et al. Study of glycated amino acid elimination reaction for an improved enzymatic glycated albumin measurement method [J]. Clin Chim Acta, 2004, 346(2): 135-43.
- [5] 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目标[S]. 中华人民共和国卫生行业标准 WS/T 403-2012, 2012.
- [6] 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): 940-4.
- [7] Muramoto Y, Matsushita M, Jrino T. Reduction of reaction differences between human mercaptalbumin and human nonmercaptalbumin measured by the bromocresol purple method [J]. Clin Chem Acta, 1999, 289(1): 69-78.
- [8] 杨静,孙林,孟志民,等. 糖化白蛋白临床诊断切点的选择和评估[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(12): 1120-5.
- [9] 梁国威,贾玫,徐旭,等. 糖化白蛋白在甲状腺功能紊乱患者中的水平变化及其影响因素[J]. 中国实验诊断学, 2010, 14(1): 95-8.
- [10] Kitamura T, Otsuki M, Tamada D, et al. Glycated albumin is set lower in relation to plasma glucose levels in patients with Cushing's syndrome [J]. Clin Chim Acta, 2013, 424: 164-7.
- [11] Wang F, Ma X, Hao Y, et al. Serum glycated albumin is inversely influenced by fat mass and visceral adipose tissue in Chinese with normal glucose tolerance [J]. PLoS One, 2012, 7(11): e51098.
- [12] Koga M, Saito H, Mukai M, et al. Serum glycated albumin levels are influenced by smoking status, independent of plasma glucose levels [J]. Acta Diabetol, 2009, 46(2): 141-4.
- [13] 周健,李红,杨文英,等. 糖化血清白蛋白正常参考值的多中心临床研究[J]. 中华内科杂志, 2009, 48(6): 467-72.
- [14] 周翔海,纪立农,张秀英,等. 我国正常糖耐量人群糖化白蛋白的参考范围[J]. 中国糖尿病杂志, 2009, 17(8): 572-5.

Methods for determination of serum albumin in the assay of glycated albumin

Shi Debao, Lv Liying

(Dept of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract A total of 306 fresh human serum samples were randomly selected. Alb concentrations were measured

by bromcresol green (BCG) method , modified bromcresol purple (mBCP) method , and immunoturbidimetric assay (ITA) , respectively. GA was measured by an enzymatic method. GA value was expressed as the percentage of GA in the total serum Alb [$GA\% (\%) = GA/Alb * 100\%$]. When $Alb \geq 40$ g/L , the clinical differences between BCG and mBCP , BCG and ITA , and mBCP and ITA were not significant , and there was no statistical difference between $GA\%_{BCG}$ and $GA\%_{mBCP}$ ($P = 0.537$) ; when $Alb < 40$ g/L , BCG had statistical difference between mBCP and ITA ($P < 0.01$) , and $GA\%_{BCG}$ was significantly lower than $GA\%_{mBCP}$ ($P < 0.01$) . No obvious clinical significance of Alb concentrations was observed measured by BCG , mBCP , and ITA when $Alb \geq 40$ g/L. There was no difference in different Alb methods for GA% calculation. When $Alb < 40$ g/L , the consistency of mBCP and ITA was better than that of BCG and ITA , which indicated that mBCP method may be more suitable for the assay of glycated albumin value (GA%) , whereas the GA% may be underestimated if using BCG method for the determination of Alb.

Key words glycated albumin; bromcresol green; modified bromcresol purple; immunoturbidimetric assay

(上接第 1804 页)

The role of neck circumference on the risk assessment of nonalcoholic fatty liver disease

Hou Lili Zhang Bao ,Guan Shixia et al

(Dept of Clinical Nutriology , The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University , Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the relationship between neck circumference (NC) and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) , and to analyze the value of NC on risk assessment in NAFLD. **Methods** 161 cases (study group) of NAFLD patients and 167 cases (control group) of people conducted health examination without NAFLD were selected. Measurement of body composition indexes (body mass index , waist circumference , waist hip ratio , NC) and the clinical indexes (blood pressure , blood glucose , blood lipid , fasting insulin and HOMA-IR) were compared between the two groups. Correlation analysis was used between body measurement index and insulin resistance (IR) . All the subjects were divided into four subgroups according to their NC quartiles. Prevalence of NAFLD and the ratio of abnormal metabolism component were compared. And the cut-off value of NC for NAFLD diagnosis was analyzed with ROC method. **Results** Compared with the control group , body mass index , waist circumference , waist hip ratio , NC , NC height ratio , blood pressure , blood glucose , fasting insulin , HOMA-IR , triglyceride , low density lipoprotein-cholesterol and very low density lipoprotein-cholesterol were significantly increased in study group while high density lipoprotein-cholesterol was reduced obviously ($P < 0.05$) . Correlation between NC and IR was close in study group and more in female patients. Prevalence of NAFLD and the ratio of abnormal metabolism component rose with the increase of NC quartiles. For the people with NAFLD , the cut-off value of NC was 37.4 cm for male and 34.0 cm for female. **Conclusion** NC is related to NAFLD. But whether it can predict the risk for NAFLD needs the support of more sample size and clinical verification.

Key words nonalcoholic fatty liver; metabolic syndrome; neck circumference