

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.04.035

尿蛋白定性与定量检测结果的差异性和相关性分析

周琼芝¹ 王玉明^{2△} 郭 翀² 刘 华² 周胤余¹

(1 昆明医科大学 云南 昆明 650032; 2 昆明医科大学第一附属医院检验科 云南 昆明 650032)

摘要 目的:探讨尿液干化学法及免疫透射比浊法检测尿蛋白结果的差异性及相关性。**方法:**对 514 例住院患者随机尿标本进行尿液干化学法及免疫透射比浊法尿蛋白的检测。**结果:**尿液干化学法阳性率为 82.1%,免疫透射比浊法阳性率为 72.8%。两种方法检测结果均为阴性标本的符合率为 98.9%,为(±)的标本二者符合率为 69.7%,为(+)的标本二者符合率为 75.6%,为(++)的标本二者符合率为 67.2%,为(+++)标本中二者符合率为 42.5%,为(++++)标本二者的符合率为 37.5%。两种方法的检测结果有显著性差异($P<0.05$);UmAlb/Ucr、NAG、和 NAG/Ucr 与 UmAlb 具有显著相关($P<0.05$),且 UmAlb/Ucr 与 UmAlb 的相关性最高。两种方法所得等级结果比较,++~+++ 之间差异有统计学意义($P<0.05$),~±、±~+、+~++、+++~++++ 之间差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论:**尿蛋白定性与定量检测结果存在显著性差异,而 UmAlb/Ucr 与 UmAlb 相关性较高。在泌尿系统疾病的诊断中,检测尿中 UmAlb 比尿常规更有意义。

关键词:尿微量白蛋白;尿液干化学;免疫透射比浊

中图分类号:R446.12 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2014)04-744-04

Analysis of the Difference and Correlation between the Qualitative and Quantitative Test Results for Urinary Protein

ZHOU Qiong-zhi¹, WANG Yu-ming^{2△}, GUO Chong², LIU Hua², ZHOU Yin-yu¹

(1 Kunming medical university, Yunnan, Kunming, 650032, China;

2 Department of clinical laboratory, The first affiliated hospital of Kunming medical university, Yunnan, Kunming, 650032, China)

ABSTRACT Objective: To explore the difference and correlation of microalbuminuria test results between the urine dry chemical method and immune transmission turbidity. **Methods:** 514 cases of hospitalized patients with random urine specimen were tested by the microalbuminuria of urine analyzer and immune transmission turbidimetry. **Results:** The test positive rate of urine dry chemistry method was 82.1%, while the test positive rate of immune transmission turbidimetry was 72.8%. The coincidence rate of two methods in which the test results were negative specimens was 98.9%, For (±) specimens, the coincidence rate was 69.7%, for (+) specimens, the coincidence rate was 75.6%, for (++) specimens the coincidence rate was 67.2%, for (+++) specimens the coincidence rate was 42.5%, for (++++) specimens the coincidence rate was 37.5%. Significant difference was found between the two methods test results ($P<0.05$); UmAlb/Ucr, NAG, NAG/Ucr had significant correlations with UmAlb ($P<0.05$), and the highest correlation was with UmAlb/Ucr. For the rank results of two methods, ++~+++ ($P<0.05$) difference was statistically significant, the range of ~±, ±~+, +~++, +++~++++ were not statistically significant. **Conclusion:** The results of qualitative and quantitative detection of urinary protein were significantly different, and the correlation between UmAlb/Ucr and UmAlb was very high, the urine UmAlb was more meaningful than urine routine in the diagnosis of urinary system disease.

Key words: UmAlb; Urine dry chemical; Immune transmission turbidity

Chinese Library Classification(CLC): R446.12 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)04-744-04

前言

尿常规检查是医院中最常用的检验项目之一,也是反映身体健康状况的基本指标之一,对泌尿系统疾病的筛查有重要价值^[1,2]。其中,蛋白的检测对肾脏及有关疾病引发的肾损害做出早期诊断具有重要意义,是泌尿系统疾病实验室检查的重要内

容^[3,4]。健康成人的尿中可含有少量的蛋白质,一般为 40~80 mg/24 h,若尿中蛋白质含量持续 >100 mg/L 或 >150 mg/24 h,则蛋白定性试验呈阳性即为蛋白尿。而微量白蛋白尿是指 24 h 尿中排出白蛋白 30~300 mg/L,是微小血管发生病变的标志物,作为早期肾损害诊断的重要指标。尿蛋白的检测方法分为定性和定量,定性检测方法为磺基水杨酸法、热乙酸法和干化学法。在临床上广泛运用的是干化学法,该法利用指示剂的蛋白质误差原理检测,但是试纸只对白蛋白敏感,对其它蛋白敏感性较差且干扰因素较多,故只能作为一种过筛试验。定量检测方法为金标定量、免疫电泳、免疫比浊、放射免疫、ELISA、毛细管电泳等,以 24 h 尿蛋白测定为金标准^[5,6],能准确反应全天尿蛋白排出量,但需要留取 24 h 尿液送检、影响因素多、患者

作者简介:周琼芝(1987-),女,硕士研究生,主要研究方向:生物化学与分子生物学,电话:15198791793,

E-mail:zhouqiongzhil021@163.com

△通讯作者:王玉明, E-mail: wangym992007@163.com

(收稿日期:2013-04-21 接受日期:2013-05-19)

顺应性差,临床上较难进行准确测定。因此,临床实验室大多采用免疫比浊法进行检测。由于两种方法学之间灵敏度和影响因素等各不相同,检测结果存在一定的差异,给临床诊治带来一定的困扰。为探讨两种检测方法结果之间的差异性和相关性,本研究用尿液干化学法检测尿白蛋白(UAlb),由于尿中的蛋白排出量不恒定,且受尿量多少的影响,而尿中肌酐的排出量是恒定的,故其与尿肌酐的比值也是评判的较好指标;采用免疫透射比浊法检测尿微量白蛋白(UmAlb)、尿葡萄糖苷酶(NAG)、尿微量总蛋白(Utp)及尿肌酐(Ucr),对检测结果进行比较分析,旨在评估尿液干化学法及免疫透射比浊法检测尿蛋白结果的差异性及相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 514 例本院住院患者的随机尿,其中男 238 例,女 276 例,年龄 13~78 岁,平均年龄(48.4±17.1)岁,患者均用一次性的洁净塑料尿杯收集随机尿送检。

1.2 仪器与试剂

尿常规检测使用仪器为 Arkray AX-4280 型尿液分析仪,采用原厂配套的干化学分析试纸条。生化项目使用仪器为 Olympus AU5400 全自动生化分析仪,UmAlb 试剂由日本和光纯药工业提供,肌酐试剂由日本积水提供,微量总蛋白试剂由德国德赛提供,微量白蛋白试剂由芬兰奥利安提供,尿葡萄糖苷酶试剂由日本和光纯药工业提供。

1.3 常规项目测定

以尿液采集专用尿杯采集研究对象随机尿液 5 mL,1500

r/min 离心 10min 备用,分别进行尿液分析仪定性检测尿白蛋白(UAlb)及全自动生化分析仪定量检测尿肌酐(Ucr)、尿微量总蛋白(Utp)、尿葡萄糖苷酶(NAG)及尿微量白蛋白(UmAlb),并计算 UmAlb/Ucr 和 NAG/Ucr。所有生化检测项目均使用 Olympus AU5400 型全自动生化分析仪进行测定,按试剂说明书设置分析参数,测定时所有项目两水平的质控均在控,两种方法检测均在 2 h 内完成。

1.4 将免疫透射比浊法在定量分析的基础上进行分级定性

定性标准为 0.1~0.2 g/L 相当于±,0.3~0.7 g/L 相当于+,1.0~2.0 g/L 相当于++,3~6 g/L 相当于+++,>6.0 g/L 相当于++++,各级之间的空缺值均归为上一级。在 UmAlb 的测定结果中,以 UmAlb≤30 mg/L 作为正常参考值,大于 30 mg/L 均视为阳性。

1.5 统计学处理

所测数据未经筛选,均呈非正态分布,免疫透射比浊法测定数据以范围表示,干化学法测定数据以 1(-)、2(±)、3(+)、4(++、5(+++、6(++++)表示。运用 SPSS17.0 统计学软件进行统计学分析,相关性用 Pearson 系数 r 来表示,两种方法的检查结果是否有差异采用 McNemar 的 χ^2 检验,各等级之间两两有无差异采用非参数统计中的秩和检验($P<0.05$ 为差异有统计学意义)。

2 结果

2.1 尿液干化学法与免疫透射比浊法所测结果

如表 1 所示,两种方法检测均为阳性的有 269 例,均为阳性的有 91 例,定量检测为阴性而定性检测为阳性的有 49 例,反之,有 105 例。

表 1 尿液干化学法与免疫透射比浊法所测结果

Table 1 The results detected by urine dry chemical method and immunological transmission turbidimetry

Immune transmission turbidimetry	Urine analyzer		Sum
	+	-	
+	269	105	374
-	49	91	140
Sum	318	196	514

2.2 定量检测各指标与 UmAlb 的相关性分析

以 UmAlb 为基准,UmAlb/Ucr、NAG 和 NAG/Ucr 与 UmAlb 具有显著性($P<0.05$),且 UmAlb/Ucr 与 UmAlb 的相关性最高。

2.3 两种方法等级结果比较

尿液干化学法检测 UAlb 阳性率为 82.1%,免疫透射比浊法检测 UmAlb 阳性率为 72.8%。在尿液分析仪检测结果为阴性的 92 例标本中,仅有 1 例是免疫透射比浊法检测呈阳性,其

表 2 定量检测各指标与 UmAlb 的相关性分析

Table 2 Correlation analysis of the quantitative test results with UmAlb

Items	n	Range	r	P
Utp(g/L)	514	0.05-314.85	0.027	0.826
NAG(U/L)	514	5.50-276.10	0.602	0.000 [△]
Ucr(μmol/L)	514	111.5-3942.10	0.006	0.899
UmAlb/Ucr(mg/gUcr)	514	25.44-40135.77	0.819	0.000 [△]
NAG/Ucr(U/gUcr)	514	38.70-6552.71	0.411	0.000 [△]

注:与 UmAlb 组相比较,[△]: $P<0.05$ 。

Note: compared with UmAlb group,[△]: $P<0.05$.

表 3 两种方法等级结果比较

Table 3 Two kinds of methods level results comparison

Urine analyzer	n	Immune transmission turbidimetry			Coincidence rate(%)
		Range	n	The same results(n)	
1 (-)	92	7-28.4	140	91	98.9
2 (±)	66	32.4-297.9	109	46	69.7
3 (+)	135	314.7-893.2	123	102	75.6
4 (++)	116	1202.2-2595.8	91	78	67.2
5 (+++)	73	3603.3-5901.2	37	31	42.5
6 (++++)	32	6201.8-7341.1	14	12	37.5

符合率为 98.9%，在 66 例± 的标本中有 46 例检测结果相同，符合率为 69.7%，在 135 例 + 的标本中有 102 例检测结果相同，符合率为 75.6%，在 116 例 ++ 的标本中有 78 例检测结果相同，符合率为 67.2%，而在 73 例 +++ 的标本中有 31 例检测结果相同，符合率为 42.5%，在 32 例 ++++ 的标本中仅有 12 例检测结果相同，其符合率为 37.5%。两种方法所得等级结果比较，++~+++ 之间差异有统计学差异，-~±、±~+、+~++、+++~++++ 之间差异均无统计学差异。

3 讨论

目前临床上检测尿蛋白的方法中，开展最广泛、最简便的是尿液干化学法，是实验室尿液检查的重要方法。该方法方便快捷，但影响因素较多，如 pH(碱性时)、某些盐类、色素、分泌物或含有较多细胞成分时，可引起假阳性，更主要的是溴酚蓝只与白蛋白结合，而不与球蛋白及黏蛋白等大分子蛋白发生作用，从而影响结果的准确性^[7-9]。在标本量很大的时候，不能及时检测，会产生沉淀或絮状物，也会对结果产生影响^[10]。故此方法只能作为一种过筛试验。而微量白蛋白的检测可以避免因敏感性差或各种干扰因素而导致的误差。放射免疫法半衰期短，且存在放射性污染，因而很少被采用；ELISA 法检出限较低(0.5 mg/L)，耗时长，也少用；免疫比浊法简便快速，重复性好，深受临床青睐，其原理是 UmAlb 与其特异性抗体结合，产生免疫复合物，其浊度与 UmAlb 的浓度成正比。由于其灵敏度高、特异性强，故测定结果较为准确。正常情况下，UmAlb 不能通过肾小球滤过膜足突间隙，是电荷选择性屏障损伤的标志蛋白^[11]。在生理条件下，尿液中仅出现极少量白蛋白，尿中微量白蛋白的增高多见于糖尿病肾病、高血压、妊娠子痫前期，是肾损伤的早期敏感指标^[12-14]。美国肾脏基金会 -CKD 临床实践指南(NKF-K/DOQI) 推荐以晨尿或随机尿的尿蛋白 / 尿肌酐来代替 24 h 尿蛋白定量^[15,16]。本试验中也发现，所测的指标中 UmAlb/Ucr 与 UmAlb 呈显著正相关且相关性较高，国内外很多研究均表明原发性和继发性肾脏病患者的随机尿 UmAlb/Ucr 是监测尿蛋白的可靠方法^[17,18]。UmAlb/Ucr 比值可以反映肾脏病患者尿蛋白的排泄量，是替代 24h 尿蛋白定量比较理想的实验室指标^[19,20]。

泌尿系统及相关疾病引发的肾损害，早期尿中的蛋白质是以清蛋白为主，由于两种方法的灵敏度及干扰因素不一样，测定结果存在一定差异^[21,22]。本实验中检测为阴性的标本中，

UmAlb 的检出阳性率为 1.1%，说明在肾病早期即尿蛋白含量很低的阶段，尿常规检测结果与微量白蛋白检测结果是基本平行的。但是按试纸带的敏感性，尿液干化学法在 66 例检测结果为± 的标本中，符合率降低，为 69.7%，在 + 的时候，符合率有所升高，而在 ++ 及 +++ 的标本中，符合率却又依次下降，++++ 的标本符合率是最低的，说明尿液干化学法检测为阳性的结果中的确存在一定数量的假阳性且存在一定的阈值。其中主要原因除两种方法的敏感性不同外，还由于这些标本均来自住院患者，病人可能服用了奎宁和磺胺嘧啶等药物引起的强碱性尿、长时间放置引起高比重尿均可使尿液干化学法出现假阳性结果。此外，试纸条浸尿过多，将缓冲剂冲脱也可导致假阳性出现。由于目前临床上限用青霉素等抗生素，在本实验中的 514 例标本中仅出现 1 例假阴性的结果。随着尿液中蛋白质含量的增加，两种方法测定结果的符合率也在增加，但是当尿蛋白含量高于 800 mg/L 时，尿液干化学法检测结果假阳性率逐增，在大量蛋白尿时尤为明显时，检测结果为 ++、+++、++++ 的标本中两种测定方法结果符合率均呈下降趋势。实验中也发现，在尿蛋白量较大时，其误差也较大，分析其原因可能是尿蛋白含量较少时，选择性尿蛋白(以白蛋白为主)比例相对较多，大分子量尿蛋白比例较少，对结果影响不大。随着尿蛋白量的增多，试纸条敏感性更高，使两种方法的检测结果出现偏差。总之，UmAlb 的检测与尿常规中尿蛋白测定相比，准确性更高，尤其在泌尿系统的疾病诊断中，检测 UmAlb 比检测尿常规更有意义，可以使患者得到更及时、更有效的治疗。

参考文献(References)

- [1] Aya Kanbara, Yoshisuke Miura, Hideyuki Hyogo, et al. Effect of urine pH changed by dietary intervention on uric acid clearancemechanism of pH-dependent excretion of urinary uric acid [J]. Nutrition Journal, 2012, 11: 39
- [2] Bose S, Bomback AS, Mehta NN, et al. Dysglycemia but not lipids is associated with abnormal urinary albumin excretion in diabetic kidney disease: a report from the Kidney Early Evaluation Program (KEEP) [J]. BMC Nephrol, 2012, 13: 104
- [3] Li LL, Chen ZQ, Wang YH, et al. Relationship between urinary nephrin and urinary albumin changes in diabetic rats and effects of yiqiyangyinhuayutongluo recipe [J]. J Tradit Chin Med, 2012, 32(2): 278-282
- [4] Nakamura T, Sato E, Amaha M, et al. Ezetimibe reduces urinary albumin excretion in hypercholesterolaemic type 2 diabetes patients with

- microalbuminuria[J]. J Int Med Res, 2012, 40(2): 798-803
- [5] Ayman M Wahbeh, Mohammad H Ewais, Mahamed E Elsharif. Comparison of 24-hour urinary protein and protein-to-creatinine ratio in the assessment of proteinuria[J]. Saudi J Kidney Dis Transpl, 2009, 20: 443-447
- [6] Conway BR, Manoharan D, Manoharan D, et al. Measuring urinary tubular biomarkers in type 2 diabetes does not add prognostic value beyond established risk factors[J]. Kidney Int, 2012, 82(7): 812-818
- [7] Niu F, Zhang L, Wang X. The Association between Changes in Urinary Albumin-to-Creatinine Ratio and Risk of Abnormal Ankle-Brachial Index in a Community-Based Chinese Population[J]. J Atheroscler Thromb, 2012, 19(10): 912-917
- [8] Morris RK, Riley RD, Doug M, et al. Diagnostic accuracy of spot urinary protein and albumin to creatinine ratios for detection of significant proteinuria or adverse pregnancy outcome in patients with suspected pre-eclampsia: systematic review and meta-analysis[J]. BMJ, 2012, 345: e4342
- [9] He J, Chen J. Urinary albumin: how low is normal[J]. J Am Soc Nephrol, 2012, 23(10): 1605-1607
- [10] Morris, Deeks, Kilby, et al. Diagnostic accuracy of spot urinary protein and albumin to creatinine ratios for detection of significant proteinuria or adverse pregnancy outcome in patients with suspected pre-eclampsia: systematic review and meta-analysis [J]. BMJ, 2012, 345: e4342
- [11] Huang Qi-tao, Gao Yun-fei, Yu Yan-hong, et al. Urinary Spot Albumin:Creatinine Ratio for Documenting Proteinuria in Women with Pre-eclampsia[J]. Rev Obstet Gynecol, 2012, 5(1): 9-15
- [12] Levey AS, El-Nahas M, Coresh J, et al. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis[J]. Lancet, 2010, 375(9731): 2073-2081
- [13] Haimoto H, Sasakabe T, Umegaki H, et al. Reduction in urinary albumin excretion with a moderate low-carbohydrate diet in patients with type 2 diabetes: a 12-month intervention [J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2012, 5: 283-291
- [14] Lee CC, Adler AI. Recent Findings on the Effects of Marine-Derived n-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Urinary Albumin Excretion and Renal Function[J]. Curr Atheroscler Rep, 2012, 14(6): 535-541
- [15] National kidney foundation. K/DOQI Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification[J]. Am J Kidney Dis, 2002, 39(suppl): 1-266
- [16] Meibodi ES, Azizi MD, Paknejad M, et al. Development of an enhanced chemiluminescence immunoassay (CLIA) for detecting urinary albumin[J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(12): 10851-10858
- [17] Ruggenenti P, Porrini E, Motterlini N, et al. Measurable urinary albumin predicts cardiovascular risk among normoalbuminuric patients with type 2 diabetes[J]. J Am Soc Nephrol, 2012, 23(10): 1717-1724
- [18] Ana Serban, Giuseppe Legname, Kirk Hansen, et al. Immunoglobulins in Urine of Hamsters with Scrapie [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2004, 279: 48817-48820
- [19] Stefan Schaub, John Wilkins, Tracey Weiler, et al. Urine protein profiling with surface-enhanced laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. Kidney International, 2004, 65: 323-332
- [20] Marion Haubitz, Stefan Wittke, Eva M Weissinger, Urine protein patterns can serve as diagnostic tools in patients with IgA nephropathy[J]. Kidney International, 2005, 67: 2313-2320
- [21] Robles NR, Felix FJ, Fernandez-Berges D, et al. Prevalence of abnormal urinary albumin excretion in a population-based study in Spain: results from the HERMEX Study [J]. Eur J Clin Invest, 2012, 42(12): 1272-1277
- [22] Robert A. Burger. Phase II Trial of Bevacizumab in Persistent or Recurrent Epithelial Ovarian Cancer or Primary Peritoneal Cancer: A Gynecologic Oncology Group Study[J]. American Society of Clinical Oncology, 2007, 25(33): 5165-5171