

者红细胞破裂,中性粒细胞酯酶或血红蛋白释放入标本被试纸条检测到,但不能被 UF-50 检测。有 14 份标本干化学检测白细胞阴性,但 UF-50 检测到白细胞在 $26 \sim 262/\mu\text{l}$ 以上,可能的原因是:①白细胞主要是淋巴细胞;②UF-50 将标本中存在的真菌或结晶计数为白细胞。因此,遇到 UF-50 报告颗粒物阳性而干化学/手工检测阴性的标本,应该离心,按照传统的检测尿沉渣方法复查。

参考文献

- Carlson DE SBE. Automated urinalysis[J]. Clin Lab Med, 1988; 449-461
- Park J, Kim J. Evaluation of iQ200 automated urine microscopy analyzer[J]. Korean J Lab Med, 2008, 28(4): 267-273
- Kim SY, Kim YJ, Lee SM, *et al.* Evaluation of the Sysmex UF-100 urine cell analyzer as a screening test to reduce the need for urine cultures for community-acquired urinary tract infection[J]. Am J Clin Pathol, 2007, 128(6): 922-925
- Sutheesophon K, Wiwanitkit V, Boonchalermvichian C, Charuruks N. Evaluation of the Sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer and comparative study with JCCLS reference method[J]. J Med Assoc Thai, 2002, 85 Suppl 1: S246-252
- Grosso S, Bruschetta G, De Rosa R, *et al.* Improving the efficiency and efficacy of pre-analytical and analytical work-flow of urine cultures with urinary flow cytometry[J]. New Microbiol, 2008, 31(4): 501-505
- Kim SY, Kim YJ, Lee SM, *et al.* Evaluation of the Sysmex UF-100 urine cell analyzer as a screening test to reduce the need for urine cultures for community-acquired urinary tract infection[J]. Am J Clin Pathol, 2007, 128(6): 922-925
- 吴侯柏, 幸丽娅, 张少勇. 全自动尿沉渣分析仪应用于尿液有形成分的临床评价[J]. 医疗装备, 2009, 22(6): 45-46
- 陈津, 王德春, 王丹, 等. IRISiQ200 全自动尿沉渣分析仪与 Sysmex UF-100 分析仪及人工镜检的比较和评价[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(4): 374-375
- 吴元健, 徐卫东, 陈昭华, 等. iQ-(TM) 200 全自动尿沉渣定量分析仪的临床应用与评价[J]. 检验医学, 2005, 20(4): 392-394
- 丛玉隆. 尿液沉渣检查标准化的建议[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25(4): 56-57
- Sutheesophon K, Wiwanitkit V, Boonchalermvichian C, *et al.* Evaluation of the Sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer and comparative study with JCCLS reference method[J]. J Med Assoc Thai, 2002, 85 Suppl 1: S246-252
- Ben-Ezra J, Bork L, McPherson RA. Evaluation of the Sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer[J]. Clin Chem, 1998, 44(1): 92-95
- Dimech W, Roney K. Evaluation of an automated urinalysis system for testing urine chemistry, microscopy and culture[J]. Pathology, 2002, 34(2): 170-177

(收稿:2009-12-24)

尿总蛋白肌酐比分组评价糖尿病早期肾损伤

叶桂云 张忠源 胡望平 池细倮 闫炳龙 张永平 王丽琴

摘要 目的 探讨以尿总蛋白肌酐比(TPCR)分组评价糖尿病早期肾损伤的应用价值。**方法** 分析 61 例正常组和 113 例 2 型糖尿病(2 型 DM)组,测量其尿液 5 项指标;以尿 TPCR $\geq 200\text{mg/g Cr}$ 组与 $< 200\text{mg/g Cr}$ 组 2 组,分析 113 例与另外 67 例 2 型 DM 患者组,测量其尿 TPCR、 α -L-岩藻糖苷酶(AFU)、亮氨酸氨基肽酶(LAP)、 β_2 -微球蛋白(β_2 -MG)、尿微量清蛋白(mAlb)、尿转铁蛋白(TF)和血肌酐(Cr)、血清胱抑素-C(CysC)各 5~6 种指标。**结果** 正常对照组与 2 型 DM 患者组、113 例 2 型 DM 患者 TPCR $\geq 200\text{mg/g Cr}$ 组与 TPCR $< 200\text{mg/g Cr}$ 组,其尿 TPCR、mAlb、 β_2 -MG、LAP、AFU5 种指标均跟随 TPCR 而显著增高,统计学差异显著($P < 0.001$)。67 例 2 型 DM 患者 TPCR $\geq 200\text{mg/g Cr}$ 组尿 TPCR、mAlb、TF 以及血清 CysC 均高于 TPCR $< 200\text{mg/g Cr}$ 组,统计学差异明显($P < 0.05$)。**结论** 以 TPCR 200mg/g Cr 分组或为界线是判别糖尿病人早期肾损害程度的可靠指标。

关键词 尿总蛋白肌酐比(TPCR) 糖尿病肾病 早期肾损伤 微白蛋白尿

Group-discrimination of Early Diabetic Renal Injury by Means of Urinary Protein/Creatinine Ratio. Ye Guiyun, Zhang Zhongyuan, Hu Wangping, *et al.* Department of Lab Med, Fujian Medical University Nanping First Hospital, Fujian 353000, China

作者单位:353000 福建医科大学南平市第一医院检验科(叶桂云、张忠源、池细倮、闫炳龙、张永平、王丽琴);350025 南京军区福州总医院生化科(胡望平)

通讯作者:胡望平,电子信箱:hwp9999@sohu.com

Abstract Objective To evaluate the early kidney injury by means of urinary protein/creatinine ratio (TPCR, 200mg/gCr) through group – discrimination in mellitus diabetes patients. **Methods** Qualitative analysis was carried out with urine 5 ~ 6 item indexes in 113 cases of diabetes mellitus , 61 cases of healthy people and other 67 cases of diabetes mellitus patients. 2 groups were divided by means of urinary protein/creatinine ratio(TPCR, 200mg/gCr). **Results** In 113 cases of diabetes mellitus , urine TPCR, mAlb, β_2 – MG, LAP and AFU of 38 cases in TPCR $\geq$ 200mg/gCr group were significantly higher than those of 75 cases in TPCR < 200mg/gCr group, and there was markable difference ($P < 0.001$). The result was same as above between 61 cases of healthy people and 113 cases of diabetes mellitus ($P < 0.001$). For 67 cases of diabetes mellitus , urine TPCR, mAlb , TF, serum CysC of 15 cases in TPCR $\geq$ 200mg/gCr group were also higher than those of 52 cases in TPCR < 200mg/gCr group, and there was significant difference in statistics ($P < 0.05$). **Conclusion** It is a dependable method to distinguish early renal injury by grouping with TPCR 200mg/gCr in diabetes mellitus.

Key words Urinary protein/creatinine ratio(TPCR); Ddiabetes nephropathy; Early renal injury; Microalbuminuria

长期以来,尿微量白蛋白(mAlb)一直被认为是诊断肾功能早期损伤的最可靠标志物,但是尿免疫不反应性白蛋白或尿免疫惰性白蛋白(immunounreactive albumin in urine)^[1]的发现以及免疫比浊法不可避免的缺陷逐渐被人们所认识。随着尿总蛋白(UTP)测定方法的成熟,总蛋白肌酐比(TPCR)将逐渐被人们所接受。白蛋白排泄率是一个不够精确的糖尿病性肾病变的预测器。以抗体为基础的常规白蛋白定量法不能检测免疫惰性白蛋白。常规免疫方法可能低估白蛋白,当前尿 mAlb 的检测方法必须以白蛋白的排泄率(AER, < 20 μ g/min)^[2]或以尿白蛋白肌酐比(30mg/g Cr)表示。用尿浓度来表示是不合适的。高效液相色谱(法)可以鉴定与测定尿中免疫不反应性白蛋白和免疫反应性白蛋白以及完整的总白蛋白^[2]。但是难于常规。本文探讨早期肾损伤的常规指标 TPCR 灵敏度和可能性,现介绍如下。

材料与方 法

1. 研究对象与分组:①2 型 DM 患者组:收集我院门诊和住院 180 例(2 批)空腹患者晨尿及血清样本,所有患者符合 1999 年世界卫生组织(WHO)关于 DM 的定义、诊断和分类标准;②正常对照组:在健康体检人群中通过口服葡萄糖耐量试验排除无糖代谢异常者 61 名。经询问病史和体检,排除心、肺、肝、肾及内分泌疾病;③未检测血清 CysC 的糖尿病组 113 例,晨尿标本以尿 TPCR200mg/g Cr^[3]分成 TPCR < 200mg/g Cr 和 TPCR $\geq$ 200mg/g Cr 两组;④检测血清 CysC 的糖尿病组 67 例,晨尿标本以尿 TPCR200mg/g Cr^[4]分成 TPCR < 200mg/g Cr 和 TPCR $\geq$ 200mg/g Cr 两组。

2. 方法:检测对象均使用生化真空促凝管(福州长庚公司提供),于清晨空腹抽取静脉血 3ml,待血液凝固后 3000r/min 离心 5min,在贝克曼 – 库尔特 LX20 生化分析仪上检测血清 CysC、Cr,留取正常健康体检者和糖尿病患者新鲜晨尿 5ml,经 1500r/min,10min 离心后取上清液检测尿 TPCR、尿 mAlb、尿 LAP、尿 AFU、尿 β_2 – MG。

3. 试剂:尿 AFU(速率法)由北京九强公司提供,糖化血红蛋白(HbA1c)采用宁波美康公司试剂,肌酐(氧化酶法)由北京利德漫公司提供,联苯三酚红法尿总蛋白试剂来自上海德赛公司, LAP、尿 mAlb(免疫比浊法)、尿 β_2 – 微球蛋白(乳胶增强免疫比浊法)采用英国朗道试剂。尿转铁蛋白(TF)(免疫比浊法)购自 Orion 诊断公司。

4. 统计学方法:糖尿病患者组先后选用 4 种方法分组:即血糖 6.1mmol/L、糖化血红蛋白 6.89%、尿微量白蛋白 30mg/g Cr 和尿总蛋白肌酐比(TPCR, 200mg/g Cr)。优选 TPCR200mg/g Cr 分组,比较计量资料以平均数 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间各项指标采用 U 检验和 t 检验进行统计分析。

结 果

1. 对糖尿病人,先后选用 4 种方法分组:即血糖 6.1mmol/L、糖化血红蛋白 6.89%、尿微量白蛋白 30mg/g Cr 和尿总蛋白肌酐比(TPCR, 200mg/g Cr)。前 3 种分组方法判别早期肾损害的 5 种指标差异均不明显。最终择优选用 TPCR, 200mg/gCr 进行分组。

2. 与正常对照组比较,2 型 DM 组尿中 TPCR、mAlb、 β_2 – MG、LAP、AFU 5 种指标均跟随 TPCR 显著增高,统计学差异显著($P < 0.001$)(表 1)。

3. 未检测血清 CysC 的 113 例 2 型 DM 患者,与 TPCR < 200mg/g Cr 组比较,TPCR $\geq$ 200mg/g Cr 组尿 TPCR、mAlb、 β_2 – MG、LAP、AFU5 种指标均跟随 TPCR 显著增高,统计学差异显著($P < 0.001$)(表 2)。

表 1 2 型 DM 患者组与正常对照组各项指标结果比较

组别	TPCR	mAlb	β_2 – MG	LAP	AFU
正常对照组($n = 61$)	57.08 $\pm$ 33.39	4.86 $\pm$ 8.64	0.17 $\pm$ 0.27	4.91 $\pm$ 2.27	0.95 $\pm$ 0.78
2 型 DM 组($n = 113$)	851.68 $\pm$ 2009.4	234.74 $\pm$ 460.47	13.21 $\pm$ 5.24	9.16 $\pm$ 7.31	3.77 $\pm$ 3.73
<i>U</i>	5.70	8.10	7.33	5.70	7.33

5 种指标统计学上均差异显著, $P < 0.001$

表 2 113 例 2 型 DM 患者 TPCR <200mg/g Cr 组与 ≥200mg/g Cr 组各项尿指标结果比较

TPCR	TPCR	mAlb	β ₂ - MG	LAP	AFU
<200mg/g Cr (n = 75)	78.44 ± 45.90	2.50 ± 26.51	0.9 ± 1.49	7.08 ± 5.43	1.89 ± 1.65
≥200 mg/g Cr (n = 38)	2262.82 ± 2903.46	625.74 ± 604.07	13.17 ± 20.04	12.97 ± 8.72	7.21 ± 4.02
U	6.45	8.66	4.89	3.88	8.06

5 种指标统计学上均差异显著, $P < 0.001$

4. 检测血清 CysC 的 67 例 2 型 DM 患者, 与 TPCR <200mg/g Cr 组比较, TPCR ≥200mg/g Cr 组尿 mAlb、TPCR、TF 以及血清 CysC 统计学上均差异明

显, ($P < 0.05$), 尿 β₂ - MG、血 Cr 无统计学差异 ($P > 0.05$) (表 3)。

表 3 67 例 2 型 DM 患者 TPCR <200mg/g Cr 组与 ≥200mg/g Cr 组其他尿 (血清) 指标结果比较

TPCR	TPCR	mAlb	血清 CysC	TF	β ₂ - MG	血清 Cr
<200mg/g Cr (n = 52)	64.68 ± 46.55	16.70 ± 23.31	0.96 ± 0.51	0.83 ± 1.70	2.15 ± 3.84	86.42 ± 34.50
≥200mg/g Cr (n = 15)	1869.00 ± 2207.00	886.00 ± 1295.00	1.24 ± 0.64	55.60 ± 78.90	9.36 ± 18.50	129.00 ± 107.90
t'	3.17	7.99	1.79	2.68	1.5	1.53
P	0.05	0.01	0.05	0.05	0.05	0.05

讨 论

1. 糖尿病早期肾损害的分组方法: 在预试验中, 我们按 HbA_{1c} 6.89% 为界分为血糖控制良好组与血糖控制差组, 尿中 AFU、mAlb、β₂ - MG、TPCR 无统计学差异 ($P > 0.05$), 仅控制差组中尿 LAP 稍高于糖代谢控制良好组 ($P < 0.05$), 说明 HbA_{1c} 与糖尿病肾损伤并无直接联系。糖尿病患者按血糖水平分组^[5], 按糖化血红蛋白水平分组, 按尿微量白蛋白排出量分组^[6], 按血清肌酐水平分组均不理想。本文最终选用以尿 TPCR 200mg/g Cr 分组。成功的分组指标与方法将出现早期肾损害各项指标在统计学上显著差异。表明尿 TPCR 200mg/g Cr 是早期肾损害好指标。

2. 尿微量白蛋白的局限性: 尿 mAlb 分子直径 36nm, 带负电荷。在 1 型糖尿病患者中, 最初的研究显示从微白蛋白尿进展到蛋白尿的比率大约 80%。导致广泛接受的概念是: 尿 mAlb 是糖尿病性肾病变危险的有用的预测器, 是肾脏早期损伤的标志。但是, 最近的研究显示, 经历 10 年跟踪仅仅 30% ~ 45% 的糖尿病患者微白蛋白尿进展到蛋白尿。大约 30% 微白蛋白尿的糖尿病患者变成正常白蛋白尿 (normoalbuminuric) 或仍然微白蛋白尿。然而白蛋白排泄率不能限定病人的稳定性以及糖尿病性肾病变的危险性。需要研究新的危险标志物以及若干有效的预言性的参数^[7]。最近国内报道仅尿 mAlb 一项为阳性而未进行治疗的糖尿病患者 23 例进行跟踪调查, 6 个月内复查上述指标两次, 结果发现有 7 例患

者两次测定结果转为阴性 (30%), 证实单用尿 mAlb 诊断早期糖尿病肾病存在一定比例的假阳性^[6]。另外, 尿蛋白定性 (白蛋白) 阴性不能排除糖尿病性肾损害。糖尿病组中尿 mAlb 阳性率为 54.9%; 尿 mAlb 最好联合其他的蛋白检测, 对发现糖尿病早期肾损伤更有意义^[8]。尿 mAlb 必须以尿白蛋白肌酐比及白清蛋白排泄率表示。尿微量白蛋白肌酐比 mAlb/Crea (mg/mmol) 参考值为 0.4 ~ 13.4mg/mmol Cr^[9]。尿白蛋白排泄率 (urinary albumin excretion rate) 参考值 < 20μg/min^[10]。本文尿微量白蛋白参考值为 < 30.0mg/g Cr。

3. 尿 TPCR 比尿 mAlb 更合适: 在低肾小球滤过率 [GFR < 60ml/(min · 1.73m²)] 和尿微量白蛋白排泄率 (AER > 15μg/min) 的糖尿病患者中, 用高效液相色谱 (HPLC) 可以鉴定与发现尿 mAlb 免疫不反应性, 出现尿免疫惰性白蛋白的流行率高达 37% (14/38)。HPLC 可以提供比当前在用的常规免疫测定更好地反应肾功能不良的指征^[11]。免疫惰性白蛋白或 mAlb 免疫不反应性^[1,2] 和免疫比浊法不可避免的缺陷逐渐被人们所认识, 随着尿总蛋白测定方法的成熟, 准确的 TPCR 已有取代尿 mAlb 的趋势。Osicka 和 Comper 发现一个具有影响力但很少被叙述的课题, 尿 mAlb 中有一部分可能不发生免疫反应的白蛋白, 称为免疫不反应 (尿) 白蛋白^[1,2]。这就对常规免疫比浊法测出的尿 mAlb 准确性提出了疑问。随着尿总蛋白测定方法 (联苯三酚红法) 日趋成熟, 24h 尿蛋白测定成为判断肾损伤的经典方法, 但最大问题是

留尿时间难以准确到 1440min, 尿量误差大, 繁复费时, 尿 TPCR 可避免儿童尿量过多过少的误差以及时间长等问题, Neithardt 报道 24h 尿蛋白与 TPCR 呈正相关 ($R=0.93, P<0.001$)^[12]。采用 200mg/g Cr 与尿总蛋白 150mg/24h 的阳性率接近^[13], 日常应用亦较满意。本文 67 例 2 型 DM 患者尿总蛋白肌酐比 $\geq 200\text{mg/g Cr}$ 组中尿 mAlb、尿 TF、血 CysC 均明显高于 $<200\text{mg/g Cr}$ 组, 而血清 Cr 无统计学意义, 明确了血肌酐浓度不灵敏, 即所谓“肌酐盲范围”。本文通过尿总蛋白肌酐比 (TPCR) 200mg/g Cr 分组进行比较分析, 各检测组间差异显著, 说明了尿 TPCR 在反映早期肾损伤比其他指标更好。

4. TPCR 的其他应用: 早期进行 TPCR 与尿蛋白定性、罗氏十联试条及 24h 尿总蛋白定量的对比; 随后 TPCR $\geq 200\text{mg/g Cr}$ (>0.2) 应用于儿科的随机尿蛋白定量^[13,14]; 本文应用于糖尿病肾病的监测。TPCR 除应用于糖尿病肾早期肾损伤外, 也应用于高血压的妊娠病症妇女。对住院的高血压妊娠病症妇女, 随机的尿总蛋白肌酐比 (>0.3) 是一个 24h 尿总蛋白排泄率增加可靠的标志物 ($>300\text{mg}/24\text{h}$)。也就是说, 对不能走动 (卧床的) 的孕妇随机的尿总蛋白肌酐比 (>0.3) 是一项有效的可靠指标^[15]。

5. 糖尿病肾早期肾损伤的其他指标: 我们在实验中可见 TPCR 结合 $\alpha-L$ -岩藻糖苷酶 (AFU)、亮氨酸氨基肽酶 (LAP)、血清 CysC、尿 mAlb 等, 能较好发现 2 型 DM 患者早期肾损伤。

尿中 AFU 活性见表 1, 如以正常组的 $\bar{x} \pm s$ (1.73U/g Cr) 为阳性判断标准, 根据我们测定正常成年人晨尿 68 份标本的正常参考范围, 尿 AFU 活性以大于 1.73U/g Cr 为升高, 尿 AFU 参考值为 $<1.73\text{U/g Cr}$ 。正常人尿中 LAP 极少, 来源于肾小管表面的上皮细胞, 在尿中稳定存在, 一旦肾实质发生损害, 肾小管上皮细胞中的 LAP 立即脱落入尿, 使尿中 LAP 升高。本文以尿 TPCR (以 200mg/g Cr 为界) 进行比较分析, 尿总蛋白肌酐比 $\geq 200\text{mg/g Cr}$ 组尿液中 LAP、AFU、mAlb、 β_2 -MG 均显著升高 ($P<0.001$); 证明了尿 LAP、AFU 不仅与尿总蛋白肌酐比有良好的相关性, 而且是反映肾损害的敏感指标。尿 LAP 参考值为 $17 \sim 48.2\text{U/g Cr}$ 。尿 TPCR 是糖尿病肾病早期诊断、病情分期与疗效观察的可靠指标, 尿酶

(LAP、AFU) 的检测更是改变了传统判断早期肾损伤的状况, TPCR 结合尿酶可提高诊断的敏感性。

参考文献

- Osicka TM, Comper WD. Characterization of immunochemically non-reactive urinary albumin [J]. Clin Chem, 2004, 50: 2286-2300
- Caramori ML, Fioretto P, Mauer M et al. Enhancing the Predictive Value of Urinary Albumin for Diabetic Nephropathy [J]. J Am Soc Nephrol, 2006, 17: 339-352
- 胡望平, 胡盈莹, 黄兢姚, 等. 推荐应用尿总蛋白/肌酐的诊断界线 [J]. 东南国防医药, 2004, 6(6): 407-409
- 胡望平, 胡盈莹, 黄兢姚. 尿总蛋白/肌酐正常参考值的探讨 [J]. 中华肾脏病杂志, 2004, 2(20): 121
- 曹友德. 尿微量白蛋白测定与糖尿病患者病程、血糖水平的相关分析 [J]. 湖南师范大学学报 (医学版), 2006, 3(3): 41-42
- 邱谷, 黄桥林, 陈红梅, 等. 健康人群血清 Cystatin C 参考值调查及其对糖尿病肾损害诊断的作用 [J]. 现代检验医学杂志, 2007, 22(4): 94-95
- Caramori ML, Fioretto P, Mauer M, et al. Perspectives in Diabetes The Need for Early Predictors of Diabetic Nephropathy Risk Is Albumin Excretion Rate Sufficient? [J] Diabetes, 2000, 49: 1399
- 陈燕, 赵敏, 张家红, 等. 尿微量蛋白检查对糖尿病早期肾损伤的诊断价值 [J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26(9): 562-564
- 黄宏耀, 朱波, 王翠, 等. 尿 γ -GT、 β_2 -MG、尿微量白蛋白联合检测对高血压和糖尿病患者早期肾损伤的诊断意义. 微循环学杂志, 2006, 16(3): 81
- 付剑云, 苏又苏, 吴京兰, 等. 尿微量清蛋白在高血压病早期肾损伤的意义及其与低级别炎症的关系. 医学研究杂志, 2007, 36(6): 68-70
- Osicka TM, Macisaac RJ, Jerums G, et al. High Prevalence of Immunoreactive Albumin in Urine From Diabetic Patients With a Low Glomerular Filtration Rate and Normo-albuminuria [J]. Diabetes Care, 2004, 27(6): 1515-1516
- Neithardt AB, Dooley SL, Borenszta J, et al. Prediction of 24-hour protein excretion in pregnancy with a single voided urine protein-to-creatinine ratio [J]. Am J Obstet Gynaecol, 2002, 186(5): 883-886
- 胡望平, 胡盈莹, 黄兢姚. 尿总蛋白/肌酐的诊断界线及临床应用. 实用医学杂志, 2005, 21(3): 331-332
- 胡盈莹, 胡望平, 周长邵, 等. 尿液与脑脊液总蛋白测定方法研究. 医学研究杂志, 2007, 36(3): 56-57
- Alfredo CM, Janeth MA, Fernando RA, et al. Protein:Creatinine Ratio in Random Urine Samples Is a Reliable Marker of Increased 24-Hour Protein Excretion in Hospitalized Women with Hypertensive Disorders of Pregnancy [J]. Clin. Chem, 2007, 53: 1623-1628

(收稿: 2009-12-08)