

47 例尿微量清蛋白高值 AMR 的评价

彭小燕 王英勇 张世坤 冯光安

摘要 目的 讨论验证尿微量清蛋白检测的线形范围,确定原倍标本检验结果准确的高值范围。**方法** 将尿微量清蛋白检测值高于 100mg/L 的 47 例标本进行稀释再分析,通过两组数据的比对,讨论尿微量清蛋白检测的线形范围。并通过浓度分别为 97.0、155.2、213.4、271.6、329.8、388.0mg/L 的标准品的验证,确定原倍标本的最高检测上限。**结果** 通过实验证明,44 例尿清蛋白检测结果低于 388mg/L 时,线形范围良好,稀释前后的结果差异无统计学意义($P > 0.05$);3 例检测结果高于 388mg/L,结果差异较大。通过验证:不同浓度标准品的 CV 值分别为 3.6%、4.5%、4.8%、4.3%、3.7%、5.2%,结果与预测值呈直线相关。**结论** 尿微量清蛋白检测时,如果结果在 388mg/L 以下,可以直接报告;如果检测结果高于 388mg/L,应该稀释重做,结果以实际检测值乘以稀释倍数报告。

关键词 尿微量清蛋白 免疫浊度法 AMR

Evaluation of High Value of AMR in 47 Patients with Microalbuminuria. Peng Xiaoyan, Wang Yingyong, Zhang Shikun, Feng Guang'an. Department of Inspection, The Center Hospital of Jiaozuo Colliery Company, Henan 454000, China

Abstract Objective To discuss and verify the linear range of microalbumin in urine and to determine the range of original sample with high value accurately. **Methods** 47 samples in which the level of microalbumin in urine was higher than 100mg/L were diluted and analyzed. Then, we compared the data of the two groups to study the linear range of microalbumin in urine. We determined the maximum detectable concentration of original sample through verifying the concentration of standards which were 97.0, 155.2, 213.4, 271.6, 329.8 and 388.0 mg/L respectively. **Results** The test proved that the level of microalbumin in urine of 44 patients with MAU was lower than 388mg/L and had good linear ranges. The difference between original and diluted samples was of no statistical significance ($P > 0.05$). The level of microalbumin in urine of 3 patients with MAU was higher than 388mg/L, and the difference was significant. CVs of standards of different concentration were 3.6%, 4.5%, 4.8%, 4.3%, 3.7%, 5.2% respectively, which had linear correlation with prediction. **Conclusion** If the level of microalbumin in urine was lower than 388mg/L, the results could be directly reported. If it was higher than 388mg/L, we should dilute and examine it again, and the actual result which was multiplied by diluted times could be reported.

Key words Microalbumin in urine; Immunoturbidimetry; AMR

尿微量清蛋白(microalbumin of urine, MAU)作为肾小球标志物广泛应用于糖尿病肾病的评估,也用于高血压性肾损伤和妊娠诱发高血压肾损伤等的监测。在不同性别不同年龄间差异显著^[1]。肾小球病变组高于肾小管间质疾病组,且有诱导肾小管细胞凋亡和显著致肾小管间质纤维化作用^[2~4]。其测定方法早期以 RIA 为主,后来有 EIA 及免疫浊度法问世。20 世纪 80 年代以来免疫透射浊度法和散射浊度法迅速推广。试剂厂家往往给出检测的线形范围,高于此上限(100mg/L)我们通常进行稀释重做。但在日常工作中,我们发现:标本的实际检测上限远远大于此范围,稀释前后结果相差不大,无统计学意义($P > 0.05$)。在定标品的定值范围内,不用稀释完全可以确保检验质量,现将其定量检测项目的线形检测范围

(analytical measurement range, AMR)讨论如下。

对象与方法

1. 研究对象:对 2009 年 1~10 月以来在笔者医院检测的随机尿微量清蛋白的结果进行回顾,检测结果高于 100mg/L 的 47 位患者的标本进一步分析。其中男性 19 例,女性 28 例;年龄 50 岁以下的 39 例,50 岁以上的 8 例;平均年龄 48.52 岁。验证所使用的标准品为同一试剂厂家提供。

2. 试剂与仪器:为北京利德曼生化技术有限公司生产的尿微量清蛋白试剂盒。线形范围 0~100mg/L,精密度 CV < 5%,批间相对极差 < 6%;在奥林巴斯 Au640 全自动生化分析仪上操作,方法为免疫浊度法的两点终点法,反应方向为正方向。

3. 工作曲线:用蒸馏水将高校准液稀释成不同浓度的系列校准液,稀释比例为蒸馏水、1:7、1:3、1:1 和原液,清蛋白的浓度分别为 0、48.5、97.0、194.0、388.0mg/L,按 $Y = a + bx + cx^2 + dx^3$ 方程取回归曲线进行定标。吸光度值分别为 -0.0008、0.0540、0.1029、0.1823、0.3094。

4. 范围的讨论验证:将检测结果大于 100mg/L 的 47 例患

者的标本分别稀释重做。其中结果在 100 ~ 200mg/L 患者 21 例;200 ~ 300mg/L 患者 16 例;300 ~ 388mg/L 患者 7 例;388 ~ 600 mg/L 的患者 2 例;高于 600mg/L 患者 1 例。分别将标本进行 2 倍、3 倍、4 倍、6 倍和 10 倍的稀释,得到不同浓度的检测值,确保稀释后的检测值在试剂厂家所规定的线形范围以内。用测量值乘以相对应的稀释倍数,换算成实际浓度报告。对稀释前后两组数据进行对比。并将 97.0mg/L 的低浓度标准品(L)和 388.0mg/L 的高浓度标准品(H)按 5L、4L + 1H、3L + 2H、2L + 3H、1L + 4H、5H 的比例分别配制成浓度为 97.0、155.2、213.4、271.6、329.8、388.0mg/L 的标准品,每天进行两次检验,第 1 次由低浓度向高浓度的顺序检验^[5];第 2 次由高浓度向低浓度的顺序检验。连续操作 5 天。将实际检测值与预测值进行比对,验证原倍标本检测的最高上限。

结 果

47 例标本中,44 例检测结果大于 100.0mg/L 低于 388mg/L,原倍检测结果为 257.8 ± 13.5 mg/L,稀释后测的结果换算成实际浓度的均值为 271.4 ± 11.3 mg/L。两者之间差异无统计学意义($P > 0.05$),因此检测值低于 388.0mg/L 的,我们可以直接报告,不用再加以稀释。检测结果大于 388.0mg/L 的,结果差异较大,标本稀释前后结果分别为:425.1、482.7、687.3mg/L 和 498.9、564.2、1643.2mg/L。但因为标本数量很少,在临床中也极少遇到这样的高值,我们就没有加以分析。建议高于 388.0mg/L 的标本稀释重做,结果以实际检测值乘以稀释倍数报告。

将标准品 10 次检验得到的检测值与实际预测值比较,我们发现,检测值的平均结果为 97.5、153.9、224.8、252.6、341.2、409.9mg/L;所得 CV 值分别为 3.6%、4.5%、4.8%、4.3%、3.7%、5.2%。与预测值 97.0、155.2、213.4、271.6、329.8、388.0mg/L 两组数据进行相关性检验,呈直线相关。因此验证了原倍标本检测值在 388.0mg/L 的检验结果的准确可靠性,可以不用稀释直接报告结果。

讨 论

免疫浊度法的本质是免疫的沉淀反应,根据 Heidelberger 曲线理论,反应液中保持抗体过量时,抗原抗体复合物随抗原量的递增而递增,直至抗原与抗体两者比例最适合时达到高峰^[6]。如果抗原过量,则造成测量的失败。因此保证反应体系中,始终保持有过量的高亲和力抗体,是检测的基本原理^[7]。在免疫浊度法中,抗原抗体的反应是非直线型的,其定标曲线实际为抛物线。厂家规定的线形范围应该是最接近直线反应时的检测范围。在实际检验工作中,定标曲线所覆盖的浓度范围,反应浊度与抗原含量呈正

比。最高定标浓度 388.0mg/L 完全可以准确检测,结果满足临床所需。我们也通过不同浓度标准品的验证,证实了这点。与多点定标的检测项目无须进行 AMR 的验证实验,测量范围由定标品的定值决定一致^[8]。但如果抗原量过大,形成的抗原抗体复合物分子变小,而且发生再度解离浊度反而下降,出现钩状效应造成误差^[9]。此时应该稀释标本,结果以实际检测值乘以稀释倍数报告。

参与反应的主要是免疫化学反应性清蛋白,其反应与抗体的特异性、效价、亲和力、种类以及抗原抗体反应的溶液和增浊剂等因素都密切相关。而尿液中的非反应性清蛋白与沉淀前相比并无明显变化。因此曾有报道 HPLC 法检测尿微量清蛋白的线形范围达到 1820mg/L^[10]。也有报道称微量清蛋白患病率为 8.3%,合并并发症的发生率高于不合并者^[1,11]。其实对于单纯性轻、中度蛋白尿,不应首先考虑肾炎,应考虑其他病因,如常见的原发性高血压、继发性肾病等。按照尿微量清蛋白筛查流程,结合临床具体分析^[12,13]。

参考文献

- 1 陈崴,王辉,董秀清,等.广州市城区普通人群中慢性肾脏病的流行病学研究.中华肾脏病杂志,2007,23(3):147-151
- 2 李惊子,钱路,王芳,等.50 例急性肾衰竭患者尿沉渣镜检与肾活检病理对比分析.中华肾脏病杂志,2007,23(7):422-425
- 3 赖小希,丁国华.牛磺酸对白蛋白诱导的鼠肾小管细胞凋亡的保护作用.中华肾脏病杂志,2007,27(9):600-601
- 4 殷薇,肖平,刘伏有,等.低分子量肝素和地塞米松对白蛋白致肾小管间质纤维化作用的影响.中华肾脏病杂志,2007,23(7):464-465
- 5 徐国斌,蒋琳.临床生物化学常规定量方法的分析性能评价.中华检验医学杂志,2007,30(6):718-720
- 6 王兰兰.临床免疫学和免疫检验.3 版,北京:人民卫生出版社,2006:54
- 7 蒋琳,唐建国,秦晓光.临床生物化学检验的概念及常用技术.中华检验医学杂志,2007,30(1):114-116
- 8 毕波,吕元.定量检测方法学性能验证的系统设计.中华检验医学杂志,2007,30(2):143-145
- 9 尚文章,石宝刚,郭斌,等.乙肝表面抗原定量免疫放射分析方法的改进.医学研究杂志,2009,38(1):79-80
- 10 陈筱菲,杨建荣,陈丽玲,等.HPLC 法检测尿白蛋白方法的建立和初步临床应用.中华检验医学杂志,2007,30(1):37-40
- 11 郭兰中,张路霞,王晓刚,等.浙江省某乡村慢性肾脏病的流行病学研究.中华肾脏病杂志,2007,23(3):152-156
- 12 毕增祺.应该被废弃的诊断名词-“隐匿性肾炎”和“隐匿性肾小球疾病”.中华肾脏病杂志,2007,23(4):207-208
- 13 杨丽,梅长林.解读美国糖尿病及慢性肾脏病临床实践指南.中华肾脏病杂志,2007,23(10):681-684

(收稿:2010-03-15)

(修回:2010-07-01)