

## 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\*

刘 非, 邱先桃, 杨丽媛, 陈小娟, 赵学芹, 丘媛媛, 张素娟, 杨红玲

(广州市妇女儿童医疗中心检验部, 广州 510623)

**摘要:**目的 为推荐临床正确选择适合的血清清蛋白测定方法, 评估溴甲酚绿法(BCG)与免疫比浊法在临床常见患者中血清清蛋白检测结果的差异。方法 选择血清清蛋白浓度在 8.0~60.0 g/L 内的样本 40 例, 同时采用 BCG 法和免疫比浊法检测血清清蛋白, 绘制散点图, 观察数据分布情况, 并计算线性拟合方程。以免疫比浊法为标准, 评价 BCG 法偏差的大小和特征。针对偏差较大的患者类型和常见患者类型, 扩大样本观察 BCG 法的检测偏差。结果 两种方法检测血清清蛋白浓度存在线性关系, 回归方程为  $Y=1.2X-7.8456$ ,  $r^2=0.9821$ 。BCG 法与免疫比浊法的差值与清蛋白浓度高度负相关( $P<0.01$ ,  $r=-0.854$ )。清蛋白浓度越低, 两者差值越大, 与免疫比浊法相比, BCG 法评估血清清蛋白水平呈正偏向。肾病综合征患者中, BCG 法高估血清清蛋白达 4~10 g/L; 孕产妇中 BCG 法高估血清清蛋白达 2~5 g/L; 新生儿和急性淋巴细胞白血病患者 BCG 法偏差在  $\pm 2$  g/L 内。结论 BCG 法检测低浓度血清清蛋白有其局限性。对肾病综合征、孕产妇和低蛋白血症等患者采用免疫比浊法正确评估血清清蛋白浓度, 可提高临床的诊断、疗效观察和预后评估等的管理水平。

**关键词:**血清清蛋白; 溴甲酚绿法; 免疫比浊法; 肾病综合征; 孕产妇

中图分类号: R446.112 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2019)03-030-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.03.007

## Limitation of Detecting Serum Albumin by Bromocresol Green Method Applied in Gynecological and Pediatric Diseases

LIU Fei, QIU Xian-tao, YANG Li-yuan, CHEN Xiao-juan, ZHAO Xue-qin, QIU Yuan-yuan,

ZHANG Su-juan, YANG Hong-ling (Department of Clinical Laboratory,

Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou 510623, China)

**Abstract:** Objective To recommend a suitable method for the determination of serum albumin in clinical use, the difference between bromocresol green method (BCG) and immunoturbidimetric method was evaluated. **Methods** Forty samples with serum albumin concentration ranging from 8.0 g/L to 60.0 g/L were selected. BCG method and immunoturbidimetric method were used to detect serum albumin. Scatter plot was drawn to observe the data distribution, and the linear fitting equation was calculated. The magnitude and characteristics of BCG deviation were evaluated by using immunoturbidimetric as standard. For patients with large deviations and common patient types, the deviation of BCG method was further observed by expanding samples. **Results** There was a linear relationship between serum albumin concentration detected by the two methods, and the regression equation was  $Y=1.2X-7.8456$ ,  $r^2=0.9821$ . The difference between BCG method and the immunoturbidimetric method was negatively correlated with the albumin concentration ( $P<0.01$ ,  $r=-0.854$ ). The lower the albumin concentration, the greater the difference between the two methods, and BCG overestimated the albumin level compared with the immunoturbidimetric method. BCG method overestimated serum albumin by 4~10 g/L in patients with nephrotic syndrome and by 2~5 g/L in pregnant women. **Conclusion** More attention should be paid to the limitations of BCG method in the detection of serum albumin. For patients with nephrotic syndrome, maternal and hypoalbuminemia, serum albumin concentration should be correctly assessed by immunoturbidimetric method, so as not to mislead the clinical diagnosis, efficacy observation and prognosis evaluation caused by BCG method.

**Keywords:** serum albumin; bromocresol green method; immunoturbidimetric method; nephrotic syndrome; maternal

清蛋白是人体血浆中最丰富的蛋白, 约占血浆总蛋白量的 50%~60%。血清清蛋白也是最常用的实验室检测指标之一。清蛋白构成了血液大约 70%~80% 的胶体渗透压<sup>[1]</sup>, 清蛋白主要有两方面

生理功能: ①维持血浆胶体渗透压。②与各种配体结合, 起运输功能, 并参与机体代谢、抗氧化、抗凝等<sup>[2-4]</sup>。

血清清蛋白血症主要是由脱水引起<sup>[5]</sup>, 而低蛋白

\* 基金项目: 广州市科技计划项目(201707010182)。

作者简介: 刘 非(1980—), 男, 博士, 副主任技师, 主要研究方法: 临床生化检验, E-mail: liubushi@163.com。

通讯作者: 杨红玲(1961—), 女, 博士, 主任医师, 硕士生导师, 主要研究方向: 临床检验诊断学, E-mail: hlyang62@163.com。

血症可由多种疾病引起。除了为蛋白质状态和蛋白质营养不良的标志外<sup>[6-7]</sup>,更为重要的是可作为肝肾等重要器官病变及疾病严重程度的预后标志物<sup>[8]</sup>,也是终末期肾病、老年患者和髋关节骨折等患者的预后指标<sup>[9-10]</sup>。

血清清蛋白目前的检测方法包括溴甲酚绿法(bromocresol green, BCG)、溴甲酚紫法(bromocresol purple, BCP)和免疫比浊法。据报道,BCG法因非特异地与 $\alpha_1$ -和 $\alpha_2$ -球蛋白,及转铁蛋白、C-反应蛋白(CRP)等急性时相蛋白反应,高估清蛋白水平<sup>[11-12]</sup>,造成低清蛋白血症的漏诊或误诊。我科引入了免疫比浊法检测血清清蛋白,该方法是检验医学溯源性联合委员会(the joint committee for traceability in laboratory medicine, JCTLM)指定的人血清清蛋白检测的参考方法,可溯源到国际参考物质 ERM-DA470k/IFCC<sup>[13-14]</sup>。为向临床正确推荐选择合适的检测方法,评估现用的BCG法与参考方法在我院常见患者中血清清蛋白检测结果的差异。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 收集2018年6~10月在广州市妇女儿童医疗中心进行静脉采血检测的患者全血样本2 ml,收集于分离胶采血管,1 800 r/min离心8 min,分离血清,采用BCG法和免疫比浊法同时检测血清清蛋白。

1.2 仪器与试剂 全自动生化分析仪(HITACHI 7600-020),BCG法清蛋白检测试剂盒(迈克生物,批号:0318071),BCG法清蛋白检测校准品(迈克生物,批号:0718071),BCG法清蛋白检测质控品(RANDOX,批号:1226UN,913UE)。免疫比浊法清蛋白检测试剂盒(Orion,批号:1822780),免疫比浊法清蛋白检测校准品(Orion,批号:1805558),免疫比浊法清蛋白检测质控品(批号:1502119P,1502118L)。两种方法均经过性能验证,精密度、准确度满足《WS/T 403-2012 临床生物化学检验常规项目分析质量指标》的要求,分析测量范围符合试剂盒声明的范围,参考区间满足《WS/T 404.2-2012 临床常用生化检验项目参考区间第2部分:血清总蛋白、清蛋白》的区间。

## 1.3 方法

1.3.1 在临床决定水平浓度区间内比较BCG法与免疫比浊血清清蛋白检测结果:选择临床样本BCG法血清清蛋白检测结果在8.0~60.0 g/L内的样本40例。BCG法和免疫比浊法分别检测样本两次,取平均值。以BCG法结果为横坐标,免疫比浊法结果为纵坐标,观察数据的分布,并计算线性拟合方程。以免疫比浊法结果为横坐标,BCG

法与免疫比浊法结果的绝对差值为纵坐标,观察数据的分布情况。评价偏差大小时,因关注偏差最显著的低值清蛋白检测结果,未使用6%的总允许误差来评估,而采用了 $\pm 2$  g/L的绝对偏差作为界限。

1.3.2 BCG法与免疫比浊法血清清蛋白检测结果在肾相关疾病患者中的比较:选择肾内科患者样本30例,BCG法和免疫比浊法分别检测样本两次,取平均值。以免疫比浊法结果为横坐标,BCG法与免疫比浊法结果的绝对差值为纵坐标,观察数据的分布情况。

1.3.3 BCG法与免疫比浊法血清清蛋白检测结果在孕产妇中的比较:选择妊娠中期和妊娠晚期孕妇样本共36例,BCG法和免疫比浊法分别检测样本两次,取平均值。以免疫比浊法结果为横坐标,BCG法与免疫比浊法结果的绝对差值为纵坐标,观察数据的分布情况。

1.3.4 BCG法与免疫比浊法血清清蛋白检测结果在新生儿中的比较:选择新生儿样本共34例,BCG法和免疫比浊法分别检测样本两次,取平均值。以免疫比浊法结果为横坐标,BCG法与免疫比浊法结果的绝对差值为纵坐标,观察数据的分布情况。

1.3.5 BCG法与免疫比浊法血清清蛋白检测结果在血液病患者中的比较:选择血液病患者样本共31例,BCG法和免疫比浊法分别检测样本两次,取平均值。以免疫比浊法结果为横坐标,BCG法与免疫比浊法结果的绝对差值为纵坐标,观察数据的分布情况。

1.4 统计学分析 采用IBM SPSS statistics 20软件包进行统计学分析,相关性检验采用Pearson法,以 $P < 0.05$ 为存在相关性,以相关系数绝对值 $> 0.8$ 为有高度相关关系。作图采用Excel 2007。

## 2 结果

2.1 BCG法与免疫比浊法血清清蛋白检测结果比较 在8.0~60.0 g/L临床常见清蛋白浓度区间内比较两种方法检测结果,两种检测方法经线性拟合后,回归方程为 $Y = 1.2X - 7.8456$ , $r^2 = 0.9821$ ,见图1。结果差值与清蛋白浓度的关系见图2,经Pearson相关性检验, $P < 0.01$ ,相关系数为 $-0.854$ ,高度负相关。清蛋白浓度越低,两者差值越大。针对患者临床资料具体分析,图2显示:框1中为4例清蛋白浓度小于20 g/L的样本均为肾病综合征患者,BCG法高估清蛋白5~7 g/L;框2中5例清蛋白浓度介于20~30 g/L的样本,3例为妊娠,1例新生儿坏死性小肠结肠炎,1例肝功能不全幼儿,BCG法高估清蛋白2~4 g/L;框3中6例清

蛋白浓度介于 30~40 g/L 的样本,全部为妊娠;框 4 中 4 例清蛋白浓度介于 20~30 g/L 的患者,两种方法清蛋白检测差值小于  $\pm 2$  g/L;框 5 中 5 例

清蛋白浓度高于 50g/L 的患者,BCG 法低估清蛋白 2~4 g/L。

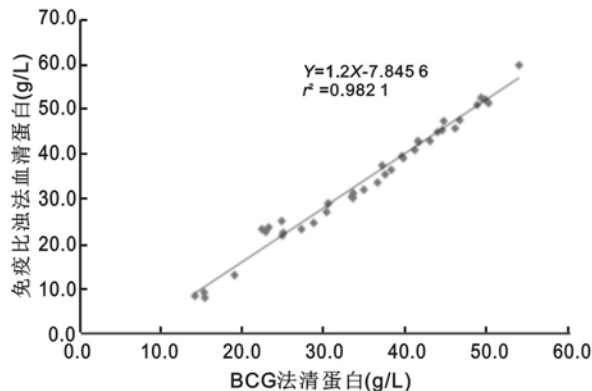


图1 BCG法与免疫比浊法清蛋白检测结果比较

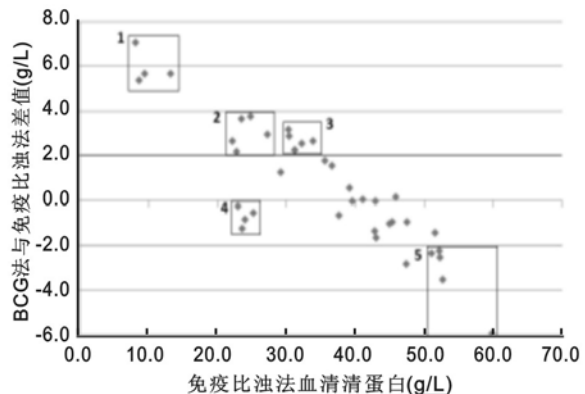


图2 BCG法与免疫比浊法清蛋白检测结果的偏差与清蛋白浓度的关系

2.2 肾内科患者 BCG 法与免疫比浊法清蛋白检测结果的偏差 见图 3。肾内科患者血清样本 30 例,比较两种方法检测结果的偏差,框中 20 例全部为肾病综合征患者,BCG 法高估清蛋白 4~10 g/L。其余 10 例患者中仅 1 例为难治性肾病综合征,其他为肾移植、肾炎、泌尿道感染、肾性高血压

等。

2.3 孕产妇 BCG 法与免疫比浊法清蛋白检测结果的偏差 见图 4。妊娠中期和晚期样本共 36 例,比较两种方法检测结果的偏差,除 2 例外,其余 34 例 BCG 法高估清蛋白 2~5 g/L,当血清清蛋白浓度小于 30 g/L,偏差超过 4 g/L。

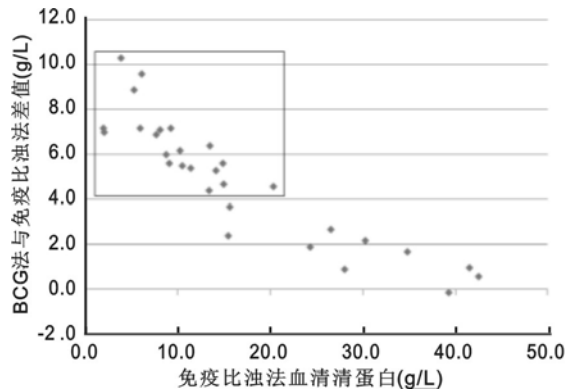


图3 肾内科患者 BCG 法与免疫比浊法清蛋白检测结果的偏差

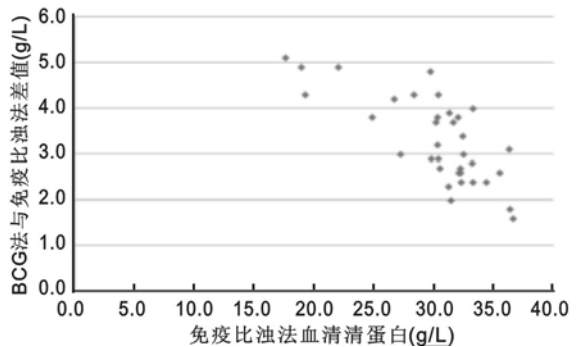


图4 孕产妇 BCG 法与免疫比浊法清蛋白检测结果的偏差

2.4 新生儿 BCG 法与免疫比浊法清蛋白检测结果的偏差 见图 5。新生儿样本共 36 例,比较两种方法检测结果的偏差,新生儿血清清蛋白水平相对集中,主要在 30~40g/L 的区间内,偏差则集中在  $\pm 2$  g/L 范围内。

2.5 血液病患者 BCG 法与免疫比浊法清蛋白检测结果的偏差 见图 6。血液病患者血清样本 31 例,比较两种方法检测结果的偏差,框中 8 例 BCG 法高估清蛋白 2~4 g/L,其中 4 例急性髓系白血病,2 例干细胞移植状态,2 例急性淋巴细胞白血病。其余 23 例患者两种方法检测结果的偏差在  $\pm 2$  g/L 范围内,全部为急性淋巴细胞白血病。

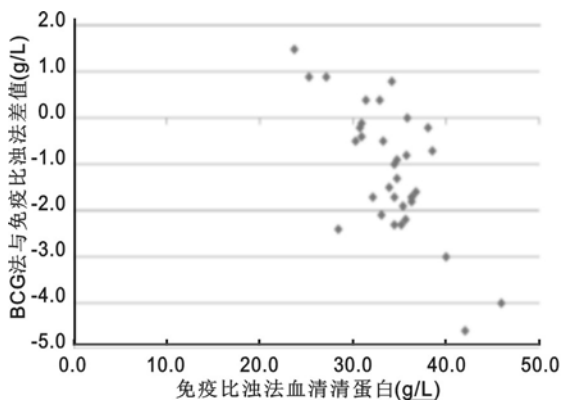


图5 新生儿 BCG 法与免疫比浊法清蛋白检测结果的偏差

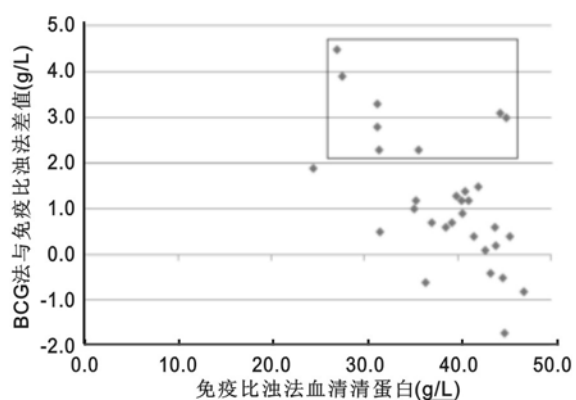


图6 血液病患者 BCG 法与免疫比浊法清蛋白检测结果的偏差

3 讨论 血清清蛋白检测是临床最常用的检验项目之一,溴甲酚绿染料法(BCG)清蛋白检测已开展近50年。BCG与清蛋白可结合形成蓝绿色化合物,在波长630 nm处有吸收峰,其吸光度与清蛋白浓度成正比。由于使用方便,价格低廉,在临床实验室中广泛应用,但也有着明显的局限性。其检测原理为正负电荷吸引作用,特异性差,BCG不仅与清蛋白反应,还会与球蛋白、纤维蛋白原、转铁蛋白、触珠蛋白等反应,影响检测结果。尽管将反应时间控制在30 s内进行比色,可以减少“慢反应”的干扰,但偏差依旧存在<sup>[15]</sup>。

从溯源性角度,美国国家标准和检测研究院(national institute of standards and technology, NIST)公布的标准物质中,没有人血清清蛋白,只有牛血清清蛋白(NIST SRM 927b)。1993年发布的欧洲共同体标准局参考物质ERM-DA470k/IFCC(原CRM-470)中,含有的参考物质包括了人血清清蛋白,但是,这是专门用于免疫比浊法测定的<sup>[13-14]</sup>。因此,尽管说人血清清蛋白可溯源至CRM-470,对于比色法而言不合适。

与免疫比浊法相比,本研究发​​现BCG法血清清蛋白检测结果偏差与清蛋白浓度呈高度负相关。此与冯品宁等<sup>[16]</sup>报道一致,BCG法高估了清蛋白水平,正常值以下检测结果偏高,浓度越低,偏差越大。在肾病综合征、妊娠等患者中的偏差通常高于2 g/L。因此,对我院比较集中的几类患者,包括肾内科、孕妇、新生儿和血液病,两种方法检测血清清蛋白的偏差进行了评估。结果表明BCG法明显高估肾病综合征患者血清清蛋白水平,而对其他肾内科患者(包括肾移植、肾炎、泌尿道感染、肾性高血压)的影响较小,这一方面与肾病综合征患者清蛋白水平严重低于正常值有关,另一方面也与肾病综合征患者血清 $\alpha_2$ -球蛋白、 $\alpha_2$ -巨球蛋白水平升高,非特异性反应增加有关<sup>[11,17]</sup>。在评估的肾内科30例患者中,约2/3的患者因BCG法检测而掩盖了其真实的病情,因此,推荐肾内科患者采用更为精准的免疫比浊法检测血清清蛋白。

BCG法普遍高估孕妇血清清蛋白水平超过2 g/L,浓度越低,偏差越大,最高达29%,在评估的36例妊娠中晚期的孕妇中,约90%以上的妇女因BCG法检测而掩盖了其真实的营养状况。因此,推荐孕妇特别是妊娠中晚期的母亲应采用免疫比浊法检测血清清蛋白。对BCG法清蛋白浓度小于30 g/L的孕妇,增加免疫比浊法的评估,对妊娠并发肾脏损伤和子痫前期等患者的血清清蛋白水平正确评估。

同理,新生儿和急性淋巴细胞白血病(ALL)

患者两种方法检测血清清蛋白结果较一致。急性髓系白血病患者等其他血液病患者BCG法高估血清清蛋白水平,浓度越低,差异越大,因此,推荐BCG法清蛋白浓度小于30 g/L的血液病患者,增加免疫比浊法的评估。

因我院患者来源有限,本研究未能对肝脏纤维化和肝硬化等低蛋白血症患者两种方法血清清蛋白检测的差异进行评估,根据UCHIDA等<sup>[18]</sup>报道,推荐采用免疫比浊法检测。

BCG法检测血清清蛋白为多数封闭系统配套的检测方法,其检测成本低,精密度高,适用于大部分的患者。然而,在部分患者中可与球蛋白和急性时相蛋白非特异性结合而高估血清清蛋白水平。本研究为评价免疫比浊法血清清蛋白检测在我院的适用患者,比较了BCG法与免疫比浊法血清清蛋白检测结果的差异,发现在肾病综合征、孕产妇和低蛋白血症患者中,BCG法明显高估血清清蛋白水平,因此,推荐此类患者采用免疫比浊法正确评估血清清蛋白浓度,以免BCG法结果对临床的诊断、疗效观察和预后评估带来误导。临床实验室必须重视BCG法局限性,必要时采用免疫比浊法测定血清清蛋白浓度,为临床提供更为精准的评估手段。

#### 参考文献:

- [1] CARACENI P, DOMENIXALI M, TOVOLI A, et al. Clinical indications for the albumin use: still a controversial issue[J]. *European Journal of Internal Medicine*, 2013, 24(8): 721-728.
- [2] FANALI G, DI MASI A, TRAZZA V, et al. Human serum albumin: from bench to bedside[J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2012, 33(3): 209-290.
- [3] GARCIA-MARTINEZ R, CARACENI P, BERNARDI M, et al. Albumin: pathophysiologic basis of its role in the treatment of cirrhosis and its complications[J]. *Hepatology*, 2013, 58(5): 1836-1846.
- [4] SITAR M E, AYDIN S, CAKATAY U. Human serum albumin and its relation with oxidative stress[J]. *Clinical Laboratory*, 2013, 59(9/10): 945-952.
- [5] HOLLIDAY M A. Extracellular fluid and its proteins: dehydration, shock, and recovery[J]. *Pediatric Nephrology*, 1999, 13(9): 989-995.
- [6] CABRERIZO S, CUADRAS D, GOMEZ-BUSTO F, et al. Serum albumin and health in older people: Review and meta analysis[J]. *Maturitas*, 2015, 81(1): 17-27.
- [7] ONG C, HAN W M, WONG J J, et al. Nutrition biomarkers and clinical outcomes in critically ill children: A critical appraisal of the literature[J]. *Clinical Nutrition*, 2014, 33(2): 191-197.

(下转36页)

- [8] HAN Sheng, HUANG Yanming, LI Zhonghua, et al. The prognostic role of preoperative serum albumin levels in glioblastoma patients [J]. BMC Cancer, 2015, 15(1): 108.
- [9] GOLDWASSER P, FELDMAN J. Association of serum albumin and mortality risk [J]. Journal of Clinical Epidemiology, 1997, 50(6): 693-703.
- [10] 沈丽娟, 孙杰, 吴晓, 等. 老年脓毒症患者血清清蛋白水平与其危重程度及预后的相关性 [J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(1): 131-133, 137.
- SHEN Lijuan, SUN Jie, WU Xiao, et al. Relationship of albumin levels with the prognosis and severity of illness among elderly sepsis patients [J]. J Mod Lab Med, 2017, 32(1): 131-133, 137.
- [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 alpha2-macroglobulin [J]. Annals of Clinical Biochemistry, 2016, 53 (Pt 1): 97-105.
- [12] GARCIA MOREIRA V, BERIDZE VAKTAN-GOVA N, MARTINEZ GAGO M D, et al. Overestimation of albumin measured by bromocresol green vs bromocresol purple method: influence of acute-phase globulins [J]. Laboratory Medicine, 2018, 49 (4): 355-361.
- [13] MERLINI G, BLIRUP-JENSEN S, JOHNSON A M, et al. Standardizing plasma protein measurements worldwide: a challenging enterprise [J]. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2010, 48 (11): 1567-1575.
- [14] ZEGERS I, KELLER T, SCHREIBER W, et al. Characterization of the new serum protein reference material ERM-DA470k/IFCC: value assignment by immunoassay [J]. Clinical Chemistry, 2010, 56 (12): 1880-1888.
- [15] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程 [S]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 203-204.
- SHANG Hong, WANG Yusan, SHEN Ziyu. National guide to clinical laboratory procedures [S]. 4th Edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015: 203-204.
- [16] 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清蛋白浓度 1 000 例样本方法学比较及偏倚评估 [J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27 (15): 2231-2234.
- FENG Pinning, YAO Zhenrong, XU Hongxu, et al. Determination of serum concentration of serum albumin by turbidimetric immunoassay method and bromocresol green staining method of 1 000 samples: methodological comparison and bias evaluation [J]. Chin J Health Lab Tec, 2017, 27 (15): 2231-2234.
- [17] 忻鼎广, 石娟娟, 伏春明, 等. 溴甲酚类试剂在测定肾病综合征和血液透析患者血清清蛋白时的偏差 [J]. 检验医学, 2006, 3(21): 231-233.
- XIN Dingguang, SHI Juanjuan, FU Chunming, et al. The deviation of serum albumin level determined by bromocresol reagent in nephrotic syndrome and hemodialyzed patients [J]. Laboratory Medicine, 2006, 21(3): 231-233.
- [18] UCHIDA Y, OKUZUMI Y, FUJISHIRO M, et al. Controversies in the determination of serum albumin concentration in chronic liver diseases [J]. The Japanese Journal of Clinical Pathology, 2006, 54 (10): 1008-1012.