

# 溴甲酚绿法与溴甲酚紫法对血清糖化清蛋白水平检测的影响

蔡德佩, 王 聪, 王晓倩, 胡 健, 王晓琴 (西安交通大学第一附属医院检验科, 西安 710061)

**摘要:** 目的 探讨溴甲酚绿 (bromocresol green, BCG) 法和溴甲酚紫 (bromocresol purple, BCP) 法测定血清清蛋白 (albumin, Alb) 对糖化清蛋白 (glycated albumin, GA) 的结果影响。方法 回顾性收集 2018 年 1~12 月于西安交通大学第一附属医院就诊患者溴甲酚绿法清蛋白 ( $\text{Alb}_{\text{BCG}}$ ) 和溴甲酚紫法清蛋白 ( $\text{Alb}_{\text{BCP}}$ ) 的检验数据, 分别计算溴甲酚绿法糖化清蛋白 ( $\text{GA}_{\text{BCG}}$ ) 和溴甲酚紫法糖化清蛋白 ( $\text{GA}_{\text{BCP}}$ ), 并比较两种方法所测得的结果是否存在差异。结果 随着患者体内 Alb 水平的降低, 两种方法测得的 Alb 值和 GA 值出现显著性差异。当  $\text{Alb} < 35\text{g/L}$  时, BCG 法比 BCP 法 Alb 测定的 Alb 值略高, 约高  $2.18\text{g/L}$ ; BCG 法比 BCP 法测定的 GA 值略低, 约低  $1.01\%$ 。当  $\text{Alb} \geq 35\text{g/L}$  时, 两种方法测定 GA 值无显著统计学差异 ( $t=2.0, P=0.05$ )。两种检测方法计算 GA 结果一致性均较好, 但当  $\text{Alb} \geq 35\text{g/L}$  时, 两种方法对于 GA 检测一致性更高。结论 在糖化清蛋白检测中, 若患者血清中 Alb 较低, BCG 法非特异性反应增加, 导致所测的 GA 值低于 BCP 法所测得的 GA 值, 可能低估患者 GA 水平。因此, BCP 法更适合检测伴有低蛋白血症糖尿病患者的 GA 值。

**关键词:** 溴甲酚绿; 溴甲酚紫; 清蛋白; 糖化清蛋白

中图分类号: R446.112 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 05-128-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.05.033

## Comparative Study on the Bromocresol Green and Bromocresol Purple Method for the Detection of Glycated Albumin

CAI De-pei, WANG Cong, WANG Xiao-qian, HU Jian, WANG Xiao-qin

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

**Abstract: Objective** To compare bromocresol green (BCG) method and bromocresol purple (BCP) method for calculation of glycated albumin (glycated albumin, GA) by detecting serum albumin (Alb). **Methods** The data from the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University from January to December 2018 were retrospectively collected and statistically analyzed. **Results** At the low level of the Alb, significant inconsistencies were observed between the two methods for detection of Alb and GA. When  $\text{Alb} < 35\text{g/L}$ , Alb detected by BCG method ( $\text{Alb}_{\text{BCG}}$ ) was about  $2.18\text{g/L}$  higher than that detected by BCP method ( $\text{Alb}_{\text{BCP}}$ ), and the corresponding GA values detected by BCG method ( $\text{GA}_{\text{BCG}}$ ) were about  $1.01\%$  lower than that detected by BCP ( $\text{GA}_{\text{BCP}}$ ). When  $\text{Alb} > 35\text{g/L}$ , there was no significant difference in GA values detected by the two methods ( $t=2.0, P > 0.05$ ). Alb values detected by the two methods showed high consistency, however, the two methods had higher consistency for GA detection when  $\text{Alb} \geq 35\text{g/L}$ . **Conclusion** For the detection of glycated albumin,  $\text{GA}_{\text{BCG}}$  might be lower than the actual GA level in patients when Alb levels are low in patients, so recommend BCP method for detection of GA in diabetics with hypoproteinemia.

**Keywords:** bromocresol green; bromocresol purple; albumin; glycated albumin

糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 是一组因胰岛素分泌不足或作用受损或两者同时存在而引起的以高血糖为特点的全身代谢紊乱性疾病<sup>[1]</sup>。糖化清蛋白 (glycated albumin, GA) 是清蛋白与葡萄糖结合而成的糖化蛋白质, 可反映 DM 患者检测前 2~3 周的平均血糖水平, 对短期内血糖变化比糖化血红蛋白 (HbA1c) 敏感, 尤其对糖尿病患者治疗方案调整后的血糖疗效评价更好, 从而受到临床研

究者越来越多的重视<sup>[2-3]</sup>。若将 GA 纳入 DM 的诊断标准, 必然会提高 DM 患者的筛查、诊断、监测治疗水平。我国临床上常用溴甲酚绿 (bromocresol green, BCG) 和溴甲酚紫 (bromocresol purple, BCP) 两种检测方法检测清蛋白 (albumin, Alb), 但以往的研究显示两种方法检测的结果存在差异, 这可能给临床使用产生一定的影响。本文将尝试分别用 BCG 与 BCP 法检测清蛋白, 并以此计算对应的

**基金项目:** 西安交通大学第一附属医院临床研究课题 (XJTU1AF-CRF-2016-019)。

**作者简介:** 蔡德佩 (1988-), 女, 研究生在读, 主治医师, E-mail: labcdp@126.com。

**通讯作者:** 王晓琴, 教授, 主任医师, E-mail: wangxiaoqin@hotmail.com。

GA值,以评估BCG与BCP法检测GA结果的可比性。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 回顾性收集2018年1~12月于西安交通大学第一附属医院就诊并同时接受糖化清蛋白和肝功能检查患者的相关数据。筛选标准:同一病人若进行多次检查,则选取第一次检查的数据;剔除脂血、溶血、黄疸样本。最终纳入13 753例。

1.2 试剂与仪器 日本旭化成株式会社糖化清蛋白检测专用试剂及配套清蛋白试剂、校准品、质控品。日本和光纯药工业株式会社的BCG法Alb试剂及配套校准品。均在日立LABOSPECT 008 AS全自动生化分析仪上检测。

1.3 方法 采集数据包括同一份生化样本中的溴甲酚紫法测定的清蛋白( $\text{Alb}_{\text{BCP}}$ )和溴甲酚绿法测定的清蛋白( $\text{Alb}_{\text{BCG}}$ ),以及对应的糖化清蛋白浓度(GA-L),并分别计算各自的GA值即 $\text{GA}_{\text{BCG}}$ 和 $\text{GA}_{\text{BCP}}$ 。

1.4 统计学分析 采用SPSS19.0统计软件进行统计分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )或百分比(%)表示,计量资料组间采用 $t$ 检验比较均

数间的差异,回归方程采用简单线性回归。进行组内相关系数,Kappa一致性分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 BCG法与BCP法检测Alb值的差异比较 见表1。分别用BCG法和BCP法检测同一标本的Alb值,并按清蛋白的实际水平进行分组,再对同一分组中两种方法检测所有标本的Alb值进行比较。不同清蛋白水平的分组中,BCG法与BCP法测得的Alb值均有统计学差异( $P<0.05$ ),平均偏倚为1.44%。当 $\text{Alb}\geq 35\text{ g/L}$ 时,BCG法与BCP法比较时,平均偏倚为0.13%,明显小于我国行业标准<sup>[4]</sup>;而当 $\text{Alb}<35\text{ g/L}$ 时,BCG法测得的Alb值明显高于BCP法所测得的Alb值,平均偏倚为9.43%;且随着患者Alb水平的进一步下降,平均偏倚逐渐增大;当 $\text{Alb}\leq 21\text{ g/L}$ 时,平均偏移高达35.03%。两种方法在不同分组中组内相关系数(interclass correlation coefficient, ICC)均大于0.75( $P<0.05$ ),可重复性好;回归系数 $r$ 值均 $>0.80$ ( $P<0.05$ ),一致性高。

表1 两种不同方法检测Alb值的差异比较

组别(g/L)	<i>n</i>	$\text{Alb}_{\text{BCG}}(\text{g/L})$	$\text{Alb}_{\text{BCP}}(\text{g/L})$	<i>t</i>	<i>P</i>	平均差 值(g/L)	平均 偏倚(%)	回归方程	<i>r</i>	ICC
$\text{Alb}\geq 35$	11 810	$41.55\pm 3.56$	$41.63\pm 4.63$	4.00	$<0.05$	-0.07	0.13	$Y=0.70X+12.30$	0.915	0.938
$\text{Alb}< 35$	1 943	$30.21\pm 4.46$	$28.03\pm 5.46$	55.19	$<0.05$	2.18	9.43	$Y=0.78X+8.27$	0.958	0.969
$28<\text{Alb}<35$	1 463	$32.34\pm 1.89$	$30.52\pm 2.83$	41.53	$<0.05$	1.82	6.41	$Y=0.58X+15.62$	0.819	0.862
$21<\text{Alb}\leq 28$	377	$25.31\pm 2.03$	$22.31\pm 2.68$	41.65	$<0.05$	2.99	14.14	$Y=0.65X+10.77$	0.861	0.906
$\text{Alb}\leq 21$	103	$17.95\pm 2.51$	$13.72\pm 3.14$	35.11	$<0.05$	4.24	35.03	$Y=0.74X+7.76$	0.931	0.952
总体	13 753	$39.95\pm 5.41$	$39.71\pm 6.71$	13.52	$<0.05$	0.24	1.44	$Y=0.78X+9.15$	0.962	0.969

2.2 BCG和BCP法检测GA值的差异比较 见表2。以两种方法所测得的Alb值分别计算对应的GA值,并按清蛋白的实际水平进行分组,再将同一分组中两种方法对应的GA值进行比较。当 $\text{Alb}\geq 35\text{ g/L}$ 时,两种方法计算GA均值水平差异无统计学意义( $P>0.05$ ),平均偏倚为1%。当患者

$\text{Alb}<35\text{ g/L}$ 时,BCG法所测得的GA水平低于BCP法测得的GA值。且随着Alb水平下降,两种方法所测得的GA值之间平均偏倚逐渐增大。两种方法计算GA在不同分组中ICC均大于0.75( $P<0.05$ ),可重复性好, $r$ 值均 $>0.95$ ,一致性好。

表2 BCG和BCP法检测GA值的差异比较

组别(g/L)	<i>n</i>	$\text{GA}_{\text{BCG}}$	$\text{GA}_{\text{BCP}}$	<i>t</i>	<i>P</i>	平均 差值	平均 偏倚(%)	回归方程	<i>r</i>	ICC
$\text{Alb}\geq 35$	11 810	$16.55\pm 5.40$	$16.56\pm 5.43$	2.0	$>0.05$	-0.01	0.01	$Y=0.99X+0.15$	0.994	0.994
$\text{Alb}< 35$	1 943	$15.86\pm 7.51$	$16.87\pm 7.80$	37.03	$<0.05$	-1.01	5.94	$Y=0.93X+0.16$	0.990	0.988
$28<\text{Alb}<35$	1 463	$17.07\pm 7.22$	$17.93\pm 7.62$	31.96	$<0.05$	-0.89	4.70	$Y=0.94X+0.18$	0.991	0.990
$21<\text{Alb}\leq 28$	377	$13.62\pm 6.72$	$15.04\pm 7.66$	20.71	$<0.05$	-1.43	8.94	$Y=0.87X+0.55$	0.991	0.983
$\text{Alb}\leq 21$	103	$7.34\pm 6.98$	$8.62\pm 8.51$	6.52	$<0.05$	-1.28	12.54	$Y=0.81X+0.37$	0.986	0.967
总体	13753	$16.45\pm 5.75$	$16.61\pm 5.86$	22.68	$<0.05$	-0.15	-0.83	$Y=0.97X+0.29$	0.991	0.991

2.3  $GA_{BCP}$  与  $GA_{BCG}$  诊断结果 Kappa 一致性分析见表3。若以  $GA_{BCP} \geq 17.1\%$  诊断为阳性,  $GA_{BCP} < 17.1\%$  诊断为阴性, 对  $GA_{BCG}$  的结果分组。经

表3  $GA_{BCP}$  和  $GA_{BCG}$  诊断结果 Cohen's Kappa 系数分析

项 目			$GA_{BCP}$		总数	Kappa 一致性
			+	-		
$ALB \geq 35g/L$	$GA_{BCG}$	+	3 284	84	3 368	0.955
		-	132	8 310	8 442	
	总数		3 416	8 394	11 810	
$ALB < 35g/L$	$GA_{BCG}$	+	578	2	580	0.854
		-	124	1 239	1 363	
	总数		702	1 241	1 943	

Cohen's Kappa 系数分析两种方法检测 GA 的一致性, 发现  $ALB \geq 35g/L$  时  $Kappa=0.955$  ( $P<0.001$ ),  $ALB < 35g/L$  时  $Kappa=0.854$  ( $P<0.001$ )。

### 3 讨论

GA 检测因不受饮食、贫血、清蛋白浓度等因素的影响, 能评估 2~3 周短期血糖波动, 在 DM 患者诊断、治疗中有广泛的应用前景。目前 GA 的检测方法有免疫分析法、高效液相色谱法、拉曼光谱法、酶法等。由于各个方法对 GA 的定义及检测的目标分子不同, 而使各自的测量结果及参考区间有很大差别, 在临床常规开展中未得到广泛应用。日本旭化成制药株式会社研制了 GA 液态酶法试剂, 酮胺氧化酶法检测 GA ( $lucica\ GA-L$ ), 该试剂有效去除了内源性氨基酸干扰, 同时改良 BCP 法测定 Alb, 增加了 Alb 检测的特异度, 用  $GA/Alb$  比值报告糖化清蛋白<sup>[5]</sup>。目前国内 Alb 的检测以 BCG 法最常用, 因为 BCP 法的人源质控血清在国内制备仍存在一定困难。本研究回顾性分析并比较分别通过 BCG 法及 BCP 法检测 13 753 份标本中的 Alb 值, 根据酮胺氧化酶法所测得的  $GA-L$ , 分别计算  $GA_{BCG}$ ,  $GA_{BCP}$ , 以评估两种检测方法对 GA 检测的差异。

本研究结果显示, BCG 法所测得的 Alb 值可能比 BCP 法偏高, 而 GA 值比 BCP 法偏低, 尤其是标本中 Alb 值较低时, 二者间差异将更大, 这与之前的报道一致。康金锁等<sup>[6]</sup>报道 BCG 法比 BCP 法所测得的 Alb 值偏高, 但遵循一定的线性规律。UENO 等<sup>[7]</sup>报道, 在营养不良患者 Alb 检测中, BCG 法比 BCP 法所测 Alb 值高, 可能导致高估患者实际营养水平。此外, WAN DE LOGT 等<sup>[8]</sup>也报道, 在膜性肾病和肾病综合征患者中, BCG 法比 BCP 法所测得的 Alb 值平均高 2.1 g/L。史德宝等<sup>[10]</sup>报道低蛋白血症患者体内 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  $Alb_{BCG}$  测定值往往高于其实际浓度, 从而导致  $GA_{BCG}$  被低估。出现上述差异的可能原因是, BCG 法容易受

非清蛋白蛋白质的非特异性干扰, 而 BCP 法反应最适 pH 值接近球蛋白等电点, 非特异性反应少, 因此当清蛋白水平越低时, 差异更明显<sup>[9-10]</sup>。此外, 本研究结果显示, 两种方法在不同分组中可重复性好, 一致性强。因此, 尽管两种检测方法在 Alb 和 GA 值的检测中存在偏倚大的情况, 但两者的相关性好, 因此可尝试使用校正公式进行标准化。

以往比较两种 Alb 检测方法的研究中所纳入的标本数大多在 200 之内。而本研究纳入 13 753 例标本, 其中 1 943 例 Alb 低于 35 g/L, 103 例 Alb 低于 21g/L, 本次纳入的低蛋白标本数远高于以往的报道<sup>[6,9]</sup>。本研究结果显示, Alb 值较低时, 与 BCP 法相比, BCG 法所测 Alb 水平偏高, 其对应的 GA 值偏低, 可能低估患者 GA 的真实水平。因此, 为提高检验效率并降低医疗费用, 自动化设备可先全部用一种相对价廉稳定的 BCG 法检测 Alb, 同时用于标本 GA 的计算。当标本结果 Alb 低于 21g/L 时, 触发仪器复检规则, 仪器用 BCP 法自动重新检测该标本 Alb, 并对结果进行修正。这样不仅可以节约成本, 也可以在实际应用过程中, 进一步发现问题, 避免了目前我国溴甲酚紫法需要人源血清而无法自主生产的问题, 同时有利于推进我国 GA 检测标准化的工作。

因此, 综合考虑下, 我们建议进一步研究  $GA_{BCG}$  和  $GA_{BCP}$ , 同时建立对应的换算和标准化公式。在此之前, 对普通患者可以用 BCG 法检测 GA 值, 但若测得的 Alb 值较低, 可采用 BCP 法进行复检。而对已明确伴有低蛋白血症的患者, 可直接进行 BCP 法检测 GA 水平。

#### 参考文献:

- [1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2017 年版) [J]. 中华糖尿病杂志, 2018, 10(1): 4-67.

(下转第 172 页)



- [9] 郝婉莹, 胡海清, 周琳, 等. Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪常见故障及排除 [J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25 (2): 163.  
HAO Wanying, HU Haiqing, ZHOU Lin, et al. Excludetion and common faults of Sysmex XE-2100 automatic blood cell analyzer[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2010, 25(2): 163.
- [10] 张宝华, 杨新. BC-5500 型全自动五分类血细胞分析仪常规故障处理、保养及注意事项 [J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25 (2): 80.  
ZHANG Baohua, YANG Xin. Routine troubleshooting, maintenance and precautions of BC-5500 automatic five-category blood cell analyzer[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2010, 25(2): 80.
- [11] 胡冬梅, 周亚莉, 翟培军. ISO 15189: 2012《医学实验室质量和能力的要求》解读—对制造商的要求 [J]. 中华检验医学杂志, 2015, 38 (7): 502-504.  
HU Dongmei, ZHOU Yali, ZHAI Peijun. Interpretation of ISO 15189:2012 "Medical laboratories-Requirements for quality and competence" -Requirements for IVD manufacturers [J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2015, 38(7): 502-504.
- [12] 费阳, 王薇, 王治国. ISO 15189:2012 与临床实验室设备管理 [J]. 临床检验杂志, 2015, 33 (2): 137-139.  
FEI Yang, WANG Wei, WANG Zhiguo. ISO 15189: 2012 and clinical laboratory equipment management [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2015, 33(2): 137-139.
- [13] 李婷婷, 王薇, 赵海建, 等. ISO 15189:2012 与临床实验室过程管理 [J]. 临床检验杂志, 2016, 34 (8): 621-624.  
LI Tingting, WANG Wei, ZHAO Haijian, et al. ISO 15189: 2012 and clinical laboratory process management [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2016, 34(8): 621-624.
- [14] 肖亚玲, 王薇, 王治国. ISO 15189:2012 与室内质量控制 [J]. 临床检验杂志, 2014, 32 (2): 124-125.  
XIAO Yaling, WANG Wei, WANG Zhiguo. ISO 15189: 2012 and indoor quality control [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2014, 32(2): 124-125.
- [15] 李婷婷, 王薇, 赵海建, 等. ISO 15189:2012 与临床实验室持续改进 [J]. 临床检验杂志, 2016, 34 (5): 382-384.  
LI Tingting, WANG Wei, ZHAO Haijian, et al. ISO 15189: 2012 and continuous improvement of clinical laboratory [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2016, 34(5): 382-384.

收稿日期: 2020-05-08 修回日期: 2020-05-16

#### (上接第 130 页)

- Chinese Diabetes Society. Chinese guideline for the type 2 diabetes (2017 edition) [J]. Chinese Journal of Diabetes, 2018, 10(1): 4-67.
- [2] 季雄娟, 邵静, 陆胜. 糖化血红蛋白及糖化清蛋白水平对糖尿病视网膜病变的诊断价值分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33 (5): 77-81.  
JI Xiongjuan, SHAO Jing, LU Sheng, et al. Diagnostic value of glycosylated hemoglobin A1c and glycated albumin levels in diabetic retinopathy [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33 (5): 77-81.
- [3] 刘然. 体质指数与血清 C 反应蛋白和糖化血红蛋白在妊娠期糖尿病诊断中的意义 [J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33 (5): 49-52.  
LIU Ran. Diagnostic significance of BMI, serum CRP and HbA1c in gestational diabetes mellitus [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33 (5): 49-52.
- [4] 中华人民共和国卫生部. WS/T 403-2012: 临床生物化学检验常规项目分析质量指标 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.  
National Health Commission of the People's Republic of China. WS/T 403-2012: Analytical quality specifications for routine analytes in clinical biochemistry [S]. Beijing: China Standards Press, 2012.
- [5] KOUZUMA T, UEMASTU Y, USAMI T, et al. Study of glycated amino acid elimination reaction for an improved enzymatic glycated albumin measurement method [J]. Clinica Chimica Acta, 2004, 346(2): 135-143.
- [6] 康金锁, 戴树民, 刘哲, 等. 两种方法检测清蛋白结果的偏差分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25 (4): 113-115.  
KANG Jinsuo, DAI Shumin, LIU Zhe, et al. Deviation analysis of albumin results tested by two detection methods [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2010, 25 (4): 113-115.
- [7] UENO T, HIRAYAMA S, ITO M, et al. Albumin concentration determined by the modified bromocresol purple method is superior to that by the bromocresol green method for assessing nutritional status in malnourished patients with inflammation [J]. Annals of Clinical Biochemistry, 2013, 50(Pt 6): 576-584.
- [8] VAN DE LOGT A E, RIJPMAN S R, VINK C H, et al. The bias between different albumin assays may affect clinical decision-making [J]. Kidney International, 2019, 95(6): 1514-1517.
- [9] 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]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2017, 27(15): 2231-2234.
- [10] 史德宝, 吕礼应. 血清清蛋白检测方法对糖化清蛋白的影响 [J]. 安徽医科大学学报, 2015, 50(12): 1805-1808.  
SHI Debao, LU Liying. Methods for determination of serum albumin in the assay of glycated albumin [J]. Acta Universitatis Medicinalis Anhui, 2015, 50(12): 1805-1808.

收稿日期: 2020-05-31 修回日期: 2020-06-15