

乳胶凝集比浊法和速率散射比浊法检测超敏 CRP 在糖尿病肾病中的辅助诊断价值分析

李齐光 梁雅茹 钟辉州

【摘要】 目的 探讨乳胶凝集比浊法（乳胶法）和速率散射比浊法（速率法）检测超敏 CRP（hs-CRP）对糖尿病肾病（DN）的辅助诊断价值。**方法** 收集单纯糖尿病患者 28 例（单纯糖尿病组）、DN 患者 38 例（DN 组）和 30 名健康人（健康对照组）的外周血标本，分别采用乳胶法和速率法检测 3 组血液标本的 hs-CRP 水平，应用受试者工作特征（ROC）曲线评价 2 种方法对 hs-CRP 在 DN 患者的辅助诊断效能；同时使用胶乳增强免疫透射比浊法检测 3 组的血清胱抑素 C 水平，应用 ROC 曲线评价 hs-CRP 和胱抑素 C 联合检测对 DN 患者的辅助诊断效能。**结果** 乳胶法和速率法均显示，DN 组、单纯糖尿病组血 hs-CRP 水平、hs-CRP 阳性率均高于健康对照组（ P 均 <0.05 ），且 DN 组血 hs-CRP 水平、hs-CRP 阳性率均高于单纯糖尿病组（ P 均 <0.05 ）。ROC 曲线显示，乳胶法检测 hs-CRP 的诊断敏感度（82%）和特异度（89%）均较高；而速率法敏感度较低（79%）、特异度较高（90%）；hs-CRP 和胱抑素 C 联合诊断的敏感度为 87%、特异度为 92%，均高于 hs-CRP 单一指标。**结论** hs-CRP 的检测对 DN 的诊断有重要临床意义，乳胶法检测 hs-CRP 对 DN 的诊断效能优于速率法，hs-CRP 和胱抑素 C 联合检测有助于提高对 DN 诊断的敏感度和特异度。

【关键词】 超敏 C 反应蛋白；胱抑素 C；糖尿病肾病；受试者工作特征曲线

Diagnostic value of hs-CRP in diabetic nephropathy detected by emulsion agglutination turbidimetric assay and speed scattering turbidimetric assay Li Qiguang, Liang Yaru, Zhong Huizhou. Department of Laboratory Medicine, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China
Corresponding author, Liang Yaru, E-mail: liangyaru626521@163.com

【Abstract】 Objective To evaluate the value of high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) in the diagnosis of diabetic nephropathy (DN) detected by the emulsion agglutination turbidimetric assay and speed scattering turbidimetric assay. **Methods** Peripheral blood sampling was collected from patients with diabetes mellitus alone (DM group, $n = 28$), DN patients (DN group, $n = 38$) and healthy counterparts (control group, $n = 30$). Serum concentration of hs-CRP among three groups was detected by emulsion agglutination turbidimetric assay and speed scattering turbidimetric assay. The application value of hs-CRP level detected by two assays in the diagnosis of DN was evaluated by the receiver operating characteristic (ROC) curve. Cystatin C (CysC) level was detected by the latex enhanced immunoturbidimetry method among three groups, and the application value of the combined detection of hs-CRP and CysC in the diagnosis of DN was evaluated by the ROC. **Results** Both two assays revealed that the serum level of hs-CRP and positive rate of hs-CRP in the DM and DN groups were significantly higher than those in the healthy control group (all $P < 0.05$), and the serum level of hs-CRP and positive rate of hs-CRP in the DN group were considerably higher than those in the DM group (both $P < 0.05$). The ROC curve analysis demonstrated that the sensitivity and specificity of the emulsion agglutination turbidimetric assay were 82% and 89%, and 79% and 90% for the speed scattering turbidimetric assay. The sensitivity and specificity of the combination of hs-CRP and CysC were 87% and 92%, higher compared with those of hs-CRP alone. **Conclusions** Serum level of hs-CRP is of clinical significance for the diagnosis of DN. The emulsion agglutination turbidimetric assay is superior to the speed scattering turbidimetric assay in the diagnostic performance of DN. Combined detection of hs-CRP and CysC contributes to im-

proving the sensitivity and specificity in the diagnosis of DN.

【Key words】 High-sensitivity C-reactive protein; Cystatin C; Diabetic nephropathy; Receiver operating characteristic curve

CRP 是一种非特异性的炎症标志物, 因为其能与肺炎链球菌细胞壁的 C 多糖起沉淀反应而得名。随着检测技术的进步, 采用超敏感方法检测到的 CRP, 被称为超敏 CRP (hs-CRP)。近年来, hs-CRP 被越来越多地应用于预测动脉粥样硬化及心脑血管相关疾病、代谢综合征、糖尿病、妊娠期高血压疾病、糖尿病肾病 (DN) 等^[1-2]。临床上 CRP 的检测方法众多, 包括 ELISA、免疫散射比浊法、乳胶凝集比浊法 (乳胶法) 和速率散射比浊法 (速率法) 等^[3]。不同的检测方法存在着多种影响因素, 导致检测结果存在差异。本研究分别采用乳胶法与速率法检测血液标本 hs-CRP 水平, 评价不同方法检测 hs-CRP 对 DN 的辅助诊断价值, 以供临床参考。

对象与方法

一、研究对象

收集 2015 年 5 月至 2016 年 1 月在中山大学附属第三医院确诊为糖尿病的 66 例住院患者 (研究组), 男 37 例、女 29 例, 年龄 37~82 岁、中位年龄 57 岁; 单纯糖尿病 28 例、经肾穿刺活组织检查 (活检) 确诊为 DN 38 例^[4]。另收集同期在本院体检的 33 名健康人作为健康对照组, 男 17 例、女 16 例, 年龄 34~73 岁、中位年龄 56 岁。所有入组者均排除有发热, 感染, 脑血管病, 心血管病, 肝、肺功能障碍, 甲状腺与胃部疾病及恶性肿瘤者。研究组与对照组的性别构成、年龄等一般资料比较差异均无统计学意义 (P 均 >0.05)。所有入组者均签署知情同意书。

二、方 法

1. 仪器与试剂

采用日立 7180 全自动生化分析仪, 行乳胶法检测 hs-CRP、胶乳增强免疫透射比浊法检测胱抑素 C, 研究所用的试剂盒、标准液均由四川迈克生物科技股份有限公司提供。采用 OmilipoTM 特定蛋白分析仪及配套试剂, 行速率法检测 hs-CRP, 研究所用的试剂盒、标准液均由深圳市国赛生物技术有限公司提供。

2. 检测方法

所有受试者均于清晨空腹采集 2 管肘静脉血各

3 ml。其中无抗凝剂管于离心分离血清后, 采用乳胶法进行 hs-CRP 检测, 结果超过 3 mg/L 判断为高 hs-CRP 血症, 同时检测血清胱抑素 C, 结果超过 1.55 mg/L 判断为异常; 依地酸二钠 (EDTA) 抗凝管, 全血混匀后采用速率法进行 hs-CRP 检测, 结果超过 5 mg/L 判断为高 hs-CRP 血症; 联合检测 hs-CRP 和胱抑素 C 时有 1 项异常则判断为异常。严格按照仪器及试剂操作规程进行质控和操作。

三、统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用方差分析, 进一步两两比较采用 SNK- q 检验; 计数资料以百分率表示, 多组间比较采用 χ^2 检验。总体比较以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, 计数资料进一步两两比较采用 Bonferroni 法校正, 即 $P < 0.05/3 = 0.017$ 为差异有统计学意义。应用 Medcalc 软件绘制 ROC 曲线, 得出敏感度和特异度, 并计算曲线下面积 (AUC), AUC 越接近 1, 表明其准确性越高, 诊断效能越好, 乳胶法及速率法的 ROC-AUC 比较采用 Z 检验。

结 果

一、乳胶法和速率法的日间精密度比较

乳胶法的日间精密度低值为 4.7 ± 0.2 、变异度为 4.3%, 高值为 53.0 ± 1.6 、变异度为 3.0%; 速率法的日间精密度低值为 6.8 ± 0.3 、变异度为 4.4%, 高值为 59.6 ± 1.2 、变异度为 2.0%。各项目变异度均低于 5%, 表明 2 种检测方法的稳定性均较好。

二、DN 组、单纯糖尿病组及健康对照组的 hs-CRP 及胱抑素 C 水平比较

乳胶法及速率法均显示, DN 组、单纯糖尿病组 hs-CRP 水平均高于健康对照组 (P 均 <0.01), 且 DN 组 hs-CRP 水平高于单纯糖尿病组 (P 均 <0.01)。DN 组胱抑素 C 水平高于单纯糖尿病组和健康对照组 (P 均 <0.05), 见表 1。

三、DN 组、单纯糖尿病组及健康对照组的 hs-CRP 阳性率比较

乳胶法及速率法均显示, DN 组、单纯糖尿病组的 hs-CRP 阳性率均高于健康对照组 (P 均 $<$

0.017), 且 DN 组的 hs-CRP 阳性率高于单纯糖尿病组 ($P < 0.017$)。另外, 乳胶法检测 DN 组 hs-CRP 的阳性率高于速率法所得阳性率 ($P < 0.017$), 见表 2。

组 别	例数	hs-CRP (mg/L)		胱抑素 C (mg/L)
		乳胶法	速率法	
DN 组	38	8.99 ± 0.97 ^{ab}	8.71 ± 0.98 ^{ab}	2.62 ± 1.19 ^{ab}
单纯糖尿病组	28	3.29 ± 0.45 ^a	3.62 ± 0.53 ^a	0.98 ± 0.55
健康对照组	33	1.63 ± 0.14	1.84 ± 0.16	0.62 ± 0.24
F 值		68.252	56.559	62.121
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注: 与健康对照组相比,^a $P < 0.01$; 与单纯糖尿病组相比,^b $P < 0.01$

表 2 DN 组、单纯糖尿病组及健康对照组的 hs-CRP 阳性率比较 例 (%)			
组 别	例数	乳胶法	速率法
DN 组	38	38 (100) ^{abc}	31 (82) ^{ab}
单纯糖尿病组	28	16 (57) ^a	13 (46) ^a
健康对照组	33	5 (15)	2 (6)
χ^2 值		52.904	49.307
P 值		<0.001	<0.001

注: 与健康对照组相比,^a $P < 0.017$; 与单纯糖尿病组相比,^b $P < 0.017$; 与 DN 组速率法相比,^c $P < 0.017$

四、乳胶法及速率法对 hs-CRP 诊断 DN 的效能比较

乳胶法检测 hs-CRP 的 ROC-AUC 为 0.936, 略高于速率法的 0.914, 但比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 1。以最大约登指数 (约登指数 = 敏感度 + 特异度 - 1) 所对应的 hs-CRP 水平为最佳诊断界点, 乳胶法检测 hs-CRP 的敏感度为 82%, 特异度为 89%; 速率法检测 hs-CRP 的敏感度为 79%, 特异度为 90%, 见表 3。

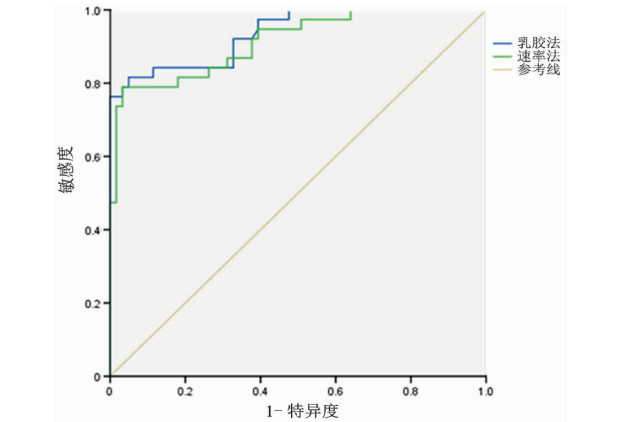


图 1 乳胶法及速率法对 hs-CRP 诊断 DN 的 ROC 曲线

表 3 乳胶法及速率法对 hs-CRP 诊断 DN 的效能比较					
检测方法	AUC	95% CI	Youden 指数	敏感度 (%)	特异度 (%)
乳胶法	0.936	0.887 ~ 0.984	0.71	82	89
速率法	0.914	0.855 ~ 0.973	0.69	79	90

五、hs-CRP 和胱抑素 C 联合检测对 DN 的诊断价值

乳胶法所得的 hs-CRP 和胶乳增强免疫透射比浊法所得的胱抑素 C 联合检测对 DN 诊断的 ROC-AUC 为 0.958, 略高于 hs-CRP 单一指标的 0.914, 但比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 其 95% CI 为 0.923 ~ 0.993、敏感度为 87%、特异度为 92%, 均高于 hs-CRP 单一指标诊断效能, 见图 2、表 4。

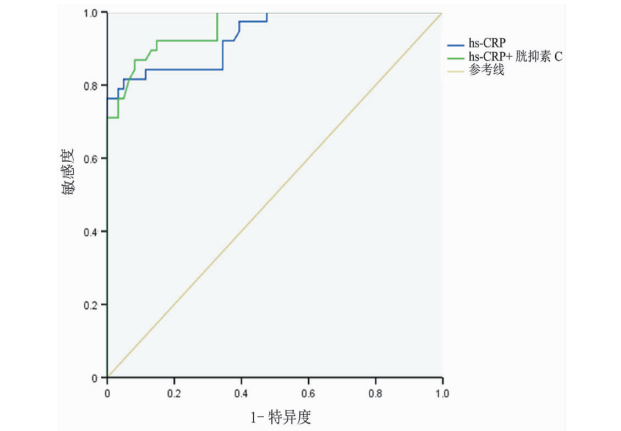


图 2 hs-CRP、hs-CRP 联合胱抑素 C 诊断 DN 的 ROC 曲线

讨 论

DN 是糖尿病常见的慢性微血管并发症之一。随我国老龄化步伐的加快, 糖尿病患者逐渐增多, DN 的发病率也随之上升, DN 是糖尿病患者致残、致死的主要原因^[5]。CRP 是一种急性炎症时相反反应蛋白, 其生物学特征主要表现为结合细菌、真菌

表 4 hs-CRP、hs-CRP 联合 胱抑素 C 对 DN 的诊断效能比较					
检测指标	AUC	95% CI	Youden 指数	敏感度 (%)	特异度 (%)
hs-CRP	0.936	0.887 ~ 0.984	0.71	82	89
hs-CRP 联合胱抑素 C	0.958	0.923 ~ 0.993	0.79	87	92

等微生物体内的多糖物质，在钙离子参与下，激活补体系统，释放炎性物质，促进细胞间黏附和吞噬细胞反应，溶解靶细胞等作用^[6]。Crook 等^[7]认为糖尿病是一种自然免疫和低度炎症疾病，并提出 2 型糖尿病是由细胞因子介导的急性时相反应的假说。近年来，炎症因子在 DN 的发生、发展中的作用成为研究热点^[8-10]。机体长期处于微炎症状态及免疫功能紊乱被认为可能是 DN 的发病机制之一^[8]。微炎症状态是机体受刺激后发生的以促炎症因子释放为中心的炎症反应，表现为全身循环低水平持续的炎症因子升高，可促进糖尿病及其并发症的发生、发展^[9,11-12]。

常规 CRP 检验方法在感染或组织损伤时 CRP >10 mg/L，但不能很好地检测出低水平（0.1 ~ 10 mg/L）的 CRP 变化，hs-CRP 则是测量较低水平炎症反应的灵敏指标^[13]。本研究中乳胶法和速率法的检测结果均显示，DN 组血液 hs-CRP 水平均高于单纯糖尿病组和健康对照组，而且 DN 组中 hs-CRP 的阳性率高于单纯糖尿病组，表明 hs-CRP 测定对 DN 的诊断有重要临床意义。另外，乳胶法检测 DN 组 hs-CRP 的阳性率高于速率法的检测阳性率，乳胶法诊断 DN 的敏感度更高，降低了漏诊的可能。

当同一实验室用 2 台或以上分析仪检测同一指标时，应定期（半年）对其检测结果进行比对分析^[14]。当比对结果差异超过临床允许范围时应该采取一定的改进措施，使同一标本在不同分析仪上的结果具有一致性和可比性。本研究显示，2 种方法检测的变异度均低于 5%，说明各检测系统稳定性较好，排除了因仪器性能对实验结果造成的影响。

ROC 曲线是反映敏感度和特异度连续变量的综合指标，曲线下面积越大，诊断的准确度越高^[15]。本文结果表明，乳胶法和速率法检测 hs-CRP 诊断 DN 的 AUC 分别为 0.936 和 0.914，说明乳胶法检测 hs-CRP 对 DN 的诊断效能略优于速率法，但两者 ROC-AUC 比较差异无统计学意义，分

析原因是研究样本量较小所致，故在日后进一步的研究中将增加样本量以更好地验证结论。在操作过程中，乳胶法检测用全自动生化分析仪操作，其批量检测快速简便，提高了工作效率。速率法检测用特定蛋白分析仪操作，每次只可以测定 1 份标本，但由于其操作简单快速，比较适合于急诊检验。综上所述，采用乳胶法检测 hs-CRP 优于速率法，建议临床辅助诊断 DN 患者，需检测 hs-CRP 水平时，采用乳胶法检测。

hs-CRP 是一个非特异性的炎症性指标，故在诊断 DN 时，应联合其他特异性较强的指标共同检测。Sahakyan 等^[16]研究发现胱抑素 C 是 2 型糖尿病发病的独立相关危险因素，胱抑素 C 可能是优于血清肌酐的、用于检测慢性肾脏病早期阶段的指标。Jeon 等^[17]认为，胱抑素 C 是反映肾小管上皮细胞损伤的一个敏感指标。因此，本研究联合检测 hs-CRP 与胱抑素 C，其对 DN 诊断的敏感度和特异度分别为 87% 和 92%，均高于 hs-CRP 单一指标的诊断效能，有利于对 DN 的预防、诊断和病情监测，但鉴于本文研究的样本量较小，没有充分体现出 hs-CRP 与胱抑素 C 在 DN 中的诊断效能，临床上要确诊 DN，还需要综合分析影像学以及病理穿刺活检等资料，避免误诊的发生。

参 考 文 献

[1] 许俊. 超敏 C 反应蛋白检测方法和临床应用进展. 实验与检验医学, 2011, 29 (6): 620-622.

[2] 庄文翔, 申志祥, 张鹏翎. 老年 2 型糖尿病患者血清超敏 C 反应蛋白与糖尿病肾病相关性分析. 实用老年医学, 2009, 23 (4): 296-298.

[3] 王凡. C 反应蛋白的检测与临床应用进展. 检验医学与临床, 2011, 8 (14): 1761-1763.

[4] KDOQI. KDOQI clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for diabetes and chronic kidney disease. Am J Kidney Dis, 2007, 49 (2 Suppl 2): S12-S154.

[5] 邱德庆, 吴小芹. 胰岛素抵抗和血脂异常在老年 2 型糖尿病早期肾病中作用的研究. 新医学, 2012, 43 (9): 628-631.

[6] 陆银宝, 李红林, 马君余. C 反应蛋白的生物化学特征及临床应用研究进展. 检验医学与临床, 2013, 11 (16): 650-651.

[7] Crook M. Type 2 diabetes mellitus: a disease of the innate immune system? An update. Diabet Med, 2004, 21 (3): 203-207.

[8] Liu J, Wang C, Liu F, Lu Y, Cheng J. Metabonomics revealed xanthine oxidase-induced oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of diabetic nephropathy. Anal Bioanal Chem, 2015, 407 (9): 2569-2579.

- [9] García-García PM, Getino-Melián MA, Domínguez-Pimentel V, Navarro-González JF. Inflammation in diabetic kidney disease. *World J Diabetes*, 2014, 5 (4): 431-443.
- [10] Goldfine AB, Fonseca V, Shoelson SE. Therapeutic approaches to target inflammation in type 2 diabetes. *Clin Chem*, 2011, 57 (2): 162-167.
- [11] Lv M, Chen Z, Hu G, Li Q. Therapeutic strategies of diabetic nephropathy: recent progress and future perspectives. *Drug Discov Today*, 2015, 20 (3): 332-346.
- [12] Furukawa M, Gohda T, Tanimoto M, Tomino Y. Pathogenesis and novel treatment from the mouse model of type 2 diabetic nephropathy. *Scientific World Journal*, 2013, 2013: 928197.
- [13] 张琳. 超敏 C 反应蛋白临床应用进展. *河北医药*, 2006, 28 (6): 519-521.
- [14] College of American Pathologists (CAP). Checklist of laboratory accreditation program. USA, 2006.
- [15] 王敬瀚. ROC 曲线在临床医学诊断实验中的应用. *中华高血压杂志*, 2008, 16 (2): 175-177.
- [16] Sahakyan K, Lee KE, Shankar A, Klein R. Serum cystatin C and the incidence of type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia*, 2011, 54 (6): 1335-1340.
- [17] Jeon YK, Kim MR, Huh JE, Mok JY, Song SH, Kim SS, Kim BH, Lee SH, Kim YK, Kim IJ. Cystatin C as an early biomarker of nephropathy in patients with type 2 diabetes. *J Korean Med Sci*, 2011, 26 (2): 258-263.

(收稿日期: 2016-02-18)

(本文编辑: 林燕薇)

