

犬猫の尿蛋白評価におけるディップ・スティック法, 乾式生化学分析装置法及び液体法の比較

桑原康人^{1)†} 石野明美¹⁾ 桑原典枝¹⁾ 西飯直仁²⁾
高島 諭²⁾ 松原達也²⁾ 北川 均²⁾

1) 名古屋市 開業 (クワハラ動物病院: 〒463-0002 名古屋市守山区中志段味墓前 2024-1)
2) 岐阜大学応用生物科学部 (〒501-1193 岐阜市柳戸 1-1)

(2016年2月1日受付・2016年5月20日受理)

要 約

尿蛋白をディップ・スティック (DP) 法と乾式生化学分析装置 (乾式法) による尿蛋白/尿クレアチニン比 (UPC) で評価し, 液体法による UPC と比較した. DP 法による判定が-であれば非蛋白尿 (UPC<0.2) であった. ±, +, 2+ の場合は非蛋白尿だけでなく, ボーダーライン (犬 UPC 0.2~0.5, 猫 0.2~0.4) や蛋白尿 (犬 UPC>0.5, 猫>0.4) も示し, UPC 測定の必要があると考えられた. 犬, 猫とも, 乾式法と液体法による UPC は高い相関係数を示し, 乾式法は液体法の代用になると考えられた. ただし, 乾式法による UPC は液体法による UPC より高い値を示し, 補正式 (犬 $y=0.8851x-0.1316$, 猫 $y=0.7227x-0.0093$) を用いた液体法による UPC への換算値を用いるほうがよいと考えられた. —キーワード: ディップ・スティック法, 乾式生化学分析装置法, 液体法, 尿蛋白, 尿蛋白/尿クレアチニン比.

-----日獣会誌 69, 533~537 (2016)

犬と猫の慢性腎臓病 (CKD) の診断と治療は, International Renal Interest Society (IRIS) がウェブサイト (<http://www.iris-kidney.com/>) で公開している Staging of CKD と Treatment Recommendation に沿って行われている. CKD は臨床的異常と安定時の血漿クレアチニン濃度によって4つのステージに分類され, さらに蛋白尿と血圧によってサブステージに分類される. 蛋白尿評価の基本は人では24時間の尿蛋白排泄量であるが, 犬と猫では24時間の尿採取が難しいことから, 24時間尿蛋白排泄量と良い相関関係を示す尿蛋白/尿クレアチニン比 (UPC) が蛋白尿の評価に使われている [1, 2]. IRIS の Staging of CKD では犬も猫も UPC<0.2 を非蛋白尿, 犬では 0.2~0.5, 猫では 0.2~0.4 をボーダーライン, 犬では >0.5, 猫では >0.4 を蛋白尿と規定している. UPC はこれまで動物病院内で測定するのが難しく, 多くの臨床獣医師は尿検査試験紙によるディップ・スティック (DP) 法で蛋白尿をスクリーニングし, 異常が疑われた場合に検査センターに依頼し, 自動分析装置によって測定した液体法による UPC の値を診断の一助としてきた. 日本でも 2015 年に

なって乾式生化学分析装置が市販され, 犬と猫の UPC が院内で測定できるようになった. 乾式法による UPC 測定は, その迅速性と簡便性から広く使用される可能性があるが, 獣医学領域ではその有用性に関する報告はみあたらない. われわれは, 乾式生化学分析装置による UPC 分析の臨床的有用性を検討する目的で, 犬と猫の尿蛋白を, DP 法, 乾式法による UPC 及び液体法による UPC によって評価した.

材料及び方法

供試動物及び尿検体: 研究には病気の診断または健康診断のために, 院内で膀胱穿刺にて採取した尿を犬と猫それぞれ30検体ずつ用いた. 供試動物の概要を表1 (犬) と表2 (猫) に示した. 採取した尿は, ただちに遠心分離後, 上清を-20℃で凍結保存した. 測定時に溶解後, 再度遠心分離し上清を検査に供した. ただし犬 No. 18 では採取直後に上清を検査に供した. 院内検査終了後の検体は, その日のうちに検査センターに冷蔵輸送し, 48時間以内の UPC 検査を依頼した. 肉眼的血尿と培養によって細菌が検出された尿は, 腎外性の尿蛋白が影響す

† 連絡責任者: 桑原康人 (クワハラ動物病院)

〒463-0002 名古屋市守山区中志段味墓前 2024-1 ☎・FAX 052-736-9948 E-mail: asuna@yk.commufa.jp

犬猫の尿蛋白評価における試験紙法、乾式及び液体法の比較

表1 供試犬の概要

No.	犬種	性別	年齢(歳)	体重(kg)	疾患名	P-Cre (mg/dl)	尿比重
1	SS	雌	11	5.9	CRF	2.1	1.008
2	柴犬	雌	13	7.8	CRF	3.4	1.011
3	JRT	雄	10	3.6	FS	1.0	1.025
4	バセンジー	雄	12	9.8	FS	2.3	1.008
5	BC	雌	10	14.4	HC	0.7	1.011
6	WC	雄	15	11.9	CRF	8.6	1.010
7	TP	雄	7	1.8	CRF	4.6	1.011
8	チワワ	雄	9	3.0	CRF	3.0	1.014
9	BF	雄	15	8.3	CRF	5.4	1.007
10	MS	雄	7	6.8	膀胱結石	0.8	1.036
11	雑種	雌	11	10.4	CRF	2.0	1.024
12	MD	雌	11	4.4	膀胱ポリープ	1.3	1.025
13	MD	雌	14	4.5	膀胱炎	ND	1.047
14	シー・ズー	雌	7	4.8	膀胱結石	ND	1.022
15	WC	雄	13	14.9	腎結石	0.9	1.016
16	チワワ	雄	8	4.1	膀胱結石	0.5	1.035
17	雑種	雌	12	14.9	腎・尿管結石	1.0	1.005
18	柴犬	雄	8	16.5	尿道狭窄	1.0	1.033
19	YT	雄	7	3.6	膀胱結石	0.5	1.038
20	雑種	雄	13	17.8	CRF	2.2	1.018
21	TP	雌	10	4.1	膀胱ポリープ	ND	1.025
22	ポメラニアン	雄	7	2.1	CRF	5.2	1.011
23	WC	雄	13	17.4	腎結石	ND	1.028
24	雑種	雌	13	7.9	CRF	3.3	1.012
25	WC	雄	11	9.9	FS	3.0	1.013
26	MS	雌	10	5.3	CRF	2.5	1.003
27	柴犬	雌	13	8.0	CRF	3.0	1.045
28	MD	雄	14	5.2	膀胱炎	2.1	1.008
29	シー・ズー	雌	11	5.9	CRF	2.0	1.009
30	チワワ	雌	6	2.5	CRF	2.1	1.028
平均値			10.7	7.9		2.5	1.020
標準偏差			2.6	4.8		1.8	0.012

P-Cre: 血漿クレアチニン濃度, SS: シェットランド・シープドック, JRT: ジャック・ラッセル・テリア, BC: ボーダー・コリー, WC: ウェルシュ・コーギー, TP: トイ・プードル, BF: ビジョン・フリーゼ, MS: ミニチュア・シュナウザー, MD: ミニチュア・ダックスフント, YT: ヨークシャー・テリア, CRF: 慢性腎不全, FS: ファンコーニ症候群, HC: 健康診断

表2 供試猫の概要

No.	猫種	性別	年齢(歳)	体重(kg)	疾患名	P-Cre (mg/dl)	尿比重
1	AS	雄	9	4.9	CRF	5.6	1.007
2	雑種	雌	9	6.2	尿管閉塞	15.7	1.013
3	BS	雄	2	3.1	尿管閉塞	1.3	1.027
4	AS	雌	13	3.0	尿管閉塞	5.0	1.009
5	雑種	雌	18	2.6	CRF	2.8	1.007
6	雑種	雄	12	3.6	CRF	5.5	1.008
7	雑種	雄	10	4.4	尿管閉塞	2.0	1.025
8	AS	雄	2	2.8	尿管閉塞	1.6	1.018
9	RB	雌	4	3.2	尿管閉塞	1.9	1.025
10	雑種	雌	11	3.4	尿管閉塞	2.8	1.010
11	雑種	雌	13	2.9	尿管閉塞	4.2	1.008
12	雑種	雄	16	3.9	尿管閉塞	2.7	1.007
13	雑種	雌	13	3.0	尿管閉塞	3.7	1.008
14	雑種	雄	4	4.7	尿管閉塞	3.6	1.010
15	雑種	雄	13	5.5	CRF	2.6	1.031
16	チンチラ	雌	13	2.9	CRF	2.7	1.019
17	AS	雌	12	2.5	CRF	4.0	1.007
18	AS	雌	11	3.2	腎結石	1.8	1.010
19	雑種	雄	1	5.0	特発性腎出血	1.6	1.031
20	SF	雄	9	3.5	多発性腎嚢胞	6.5	1.006
21	雑種	雄	4	4.7	尿管閉塞	3.9	1.012
22	雑種	雄	6	5.1	尿管閉塞	2.3	1.027
23	雑種	雌	1	3.7	尿管閉塞	2.0	1.013
24	雑種	雌	12	3.4	尿管閉塞	17.2	1.006
25	雑種	雄	9	4.0	多発性腎嚢胞	5.3	1.005
26	ソマリ	雌	2	2.8	尿管閉塞	2.5	1.007
27	チンチラ	雌	3	2.9	間質性腎炎	2.3	1.011
28	雑種	雄	12	4.6	HC	1.4	1.019
29	AS	雌	2	2.6	FHC	1.5	1.008
30	雑種	雄	4	4.7	尿管閉塞	3.9	1.012
平均値			8.3	3.8		4.0	1.014
標準偏差			4.9	1.0		3.6	0.016

P-Cre: 血漿クレアチニン濃度, AS: アメリカン・ショートヘア, BS: プリティッシュ・ショートヘア, RB: ロシアン・ブルー, SF: スコティッシュ・フォールド, CRF: 慢性腎不全, HC: 健康診断, FHC: 家族性高カルシウム血症

る可能性があるため [3], この研究の対象から除外した。また、乾式法によって尿蛋白濃度 (UP) または尿クレアチニン濃度 (UC) が測定限界以下 (UP: <5mg/dl, UC: <6mg/dl) あるいは測定限界以上 (UP: >400mg/dl, UC: >350mg/dl) であった検体も研究か

表3 尿蛋白検査の結果

動物種	項目	例数	平均値	標準偏差	P値	
犬		-	1			
	ディップ・スティック法	±	6			
		+	10			
		2+	7			
		3+	6			
	UP (mg/dl)	乾式法	30	73.0	66.5	0.75869
		液体法	30	75.2	93.3	
	UC (mg/dl)	乾式法	30	82.3	47.1	0.36960
		液体法	30	86.4	48.8	
	UPC	乾式法	30	1.13	1.04	0.00003
液体法		30	0.87	0.96		
猫		-	2			
	ディップ・スティック法	±	3			
		+	14			
		2+	10			
		3+	1			
	UP (mg/dl)	乾式法	30	102.9	77.0	0.00008
		液体法	30	73.9	73.2	
	UC (mg/dl)	乾式法	30	247.5	177.2	0.00028
		液体法	30	215.1	218.9	
	UPC	乾式法	30	1.30	1.13	0.00003
液体法		30	0.92	0.86		

UP：尿蛋白濃度
 UC：尿クレアチニン濃度
 UPC：尿蛋白/尿クレアチニン比
 P値：乾式法と液体法の差を示す

ら除外した。供試動物の血漿クレアチニン濃度は、犬では $2.5 \pm 1.8 \text{ mg/dl}$ 、猫では $4.0 \pm 3.6 \text{ mg/dl}$ であった。尿の尿比重は、表1及び表2に示すように犬では 1.020 ± 0.012 、猫では 1.014 ± 0.016 であり、希釈尿から濃縮尿までさまざまな状態の尿が含まれていた。

測定方法：尿蛋白はDP法によって検出した（マルチスティックス，シーメンスヘルスケアダイアグノスティクス(株)，東京）。UPCは、院内では乾式血液化学自動検査器（IDEXXカタリストDX，アイデックスラボラトリーズ(株)，東京）を用いてUP及びUCを測定した。乾式法によるUPの測定はピロカテコール・バイオレット・モリブデン酸塩複合体による比色法（VITROSTM Chemistry Products Slides, Fisher Scientific, U.S.A.）であり、UCの測定はクレアチニン・アミドヒドロラーゼによる比色酵素法（VITROSTM Chemistry Products Slides, Fisher Scientific, U.S.A.）である。乾式法の測定範囲はUPが $5 \sim 400 \text{ mg/dl}$ 、UCが $6 \sim 350 \text{ mg/dl}$ である。液体法によるUPCの測定は、検査センター（アイデックスラボラトリーズ(株)検査サービス事業部，東京）に依頼し、UP及びUCの測定は自動分析装置（AU5800，ベックマン・コールター(株)，東京）を用い、それぞれピロガロールレッド法[4]及びザルコ

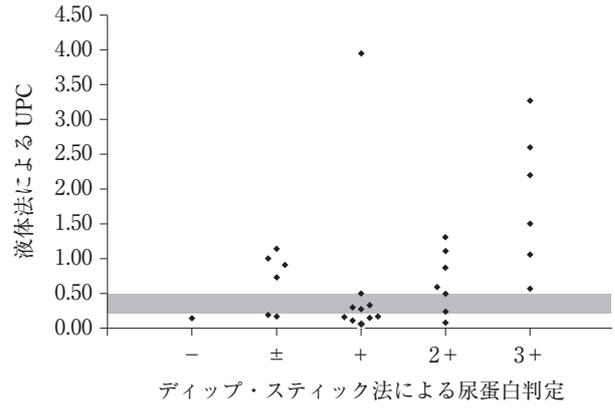


図1 ディップ・スティック法による尿蛋白判定と液体法によるUPCの関係（犬）
 グレーゾーン：ボーダーラインの範囲

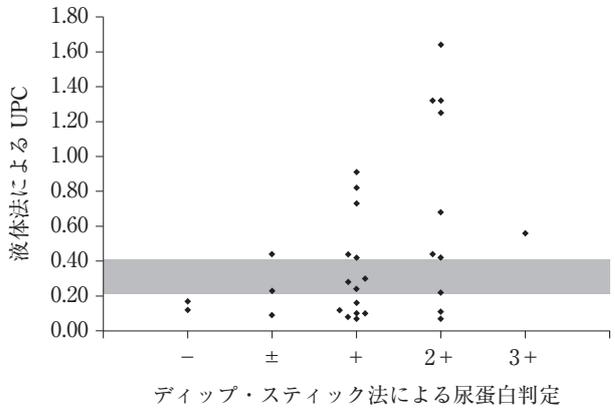


図2 ディップ・スティック法による尿蛋白判定と液体法によるUPCの関係（猫）
 グレーゾーン：ボーダーラインの範囲

シンオキシダーゼ色素法[5]によって実施した。液体法の測定範囲はUPが $1.9 \sim 500 \text{ mg/dl}$ 、UCが $0.05 \sim 160 \text{ mg/dl}$ である。

尿培養は羊血液寒天培地（ポアメディア，栄研化学(株)，栃木）及びポータブル・インキュベーター（SDインキュベータ，全日本獣医協同組合，大阪）を用いて実施した。尿比重は、ポケット犬猫尿比重屈折計（PAL-犬猫尿比重，(株)アタゴ，東京）により測定した。

統計処理：成績は平均値±標準偏差で表示した。乾式法と液体法の差はpaired t-testを用いて検定した。乾式法と液体法の測定値の関係はピアソンの相関係数を用いて検討した。

成 績

尿蛋白検査の結果：表3に示すようにDP法による尿蛋白の判定は、犬では-が1検体、±が6検体、+が10検体、2+が7検体、3+が6検体であった。犬のUPは、乾式法では $73.0 \pm 66.5 \text{ mg/dl}$ 、液体法では $75.2 \pm$

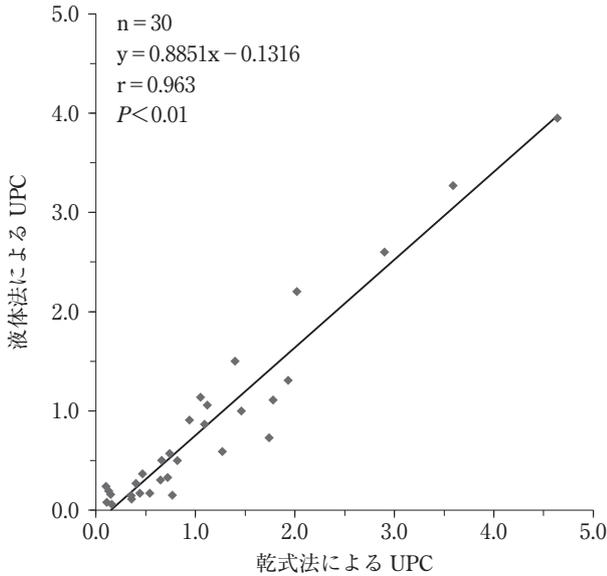


図3 乾式法によるUPCと液体法によるUPCの関係(犬)
両者は良好な相関関係を示した

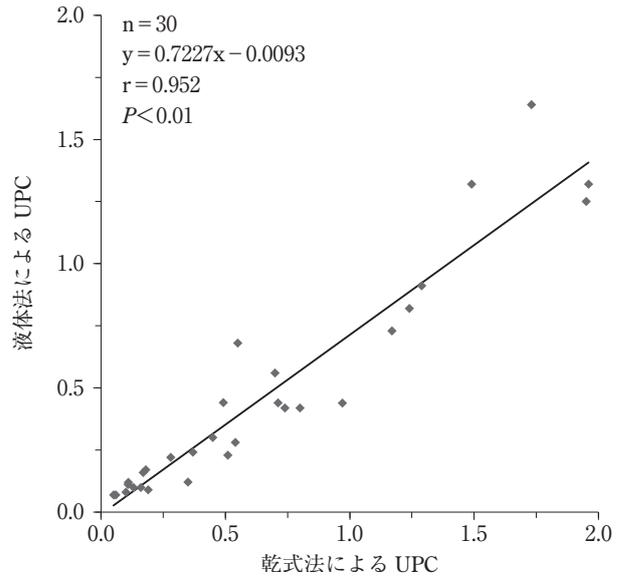


図4 乾式法によるUPCと液体法によるUPCの関係(猫)
両者は良好な相関関係を示した

93.3mg/dlであり、UCは、乾式法では 82.3 ± 47.1 mg/dl、液体法では 86.4 ± 48.8 mg/dlであった。UPCは、乾式法では 1.13 ± 1.04 、液体法では 0.87 ± 0.96 であり、乾式法が有意に高かった ($P < 0.01$)。

猫では、DP法による尿蛋白の判定は、-が2検体、±が3検体、+が14検体、2+が10検体、3+が1検体であった。猫ではUPもUCも乾式法が液体法よりも有意に高く ($P < 0.01$)、UPCも乾式法では 1.30 ± 1.13 、液体法では 0.92 ± 0.86 であり、乾式法が有意に高かった ($P < 0.01$)。

DP法による尿蛋白判定と液体法によるUPCの関係：DP法による尿蛋白判定と液体法によるUPCの関係を図1(犬)と図2(猫)に示す。DP法の判定が-の時、UPCは犬では0.14で、猫では0.12と0.17で、すべてUPC < 0.2(非蛋白尿)であった。DP法で判定が±の検体は、UPCでみると非蛋白尿が犬では2/6検体、猫では1/3検体あり、一方でボーダーライン(犬：UPC 0.2~0.5, 猫：0.2~0.4)が犬では0/6検体、猫では1/3検体あった。さらに明瞭な蛋白尿(犬：UPC > 0.5, 猫：> 0.4)は犬では4/6検体、猫では1/3検体あった。DP法で+の時は、非蛋白尿は犬では5/10、猫では6/14検体あり、ボーダーラインは犬では4/10、猫では3/14検体、蛋白尿は犬では1/10、猫では5/14検体あった。2+の時は、非蛋白尿は犬では1/7、猫では2/10検体、ボーダーラインは犬では2/7、猫では1/10検体、さらに蛋白尿は犬では4/7、猫では7/10検体あった。3+の時は、非蛋白尿やボーダーラインの検体はなく、すべて明瞭な蛋白尿(犬：6/6, 猫：1/1検体)であった。

乾式法によるUPCと液体法によるUPCの関係：図

3(犬)と図4(猫)に乾式法によるUPCと液体法によるUPCの関係を示した。院内で求めた乾式法によるUPCと検査センターで求めた液体法によるUPCは、犬では $r = 0.963$ と高い相関係数を示し ($P < 0.01$)、乾式法によるUPCをx、液体法によるUPCをyとすると、回帰式は $y = 0.8851x - 0.1316$ であった。猫でも乾式法と液体法の相関係数は高く ($r = 0.952$, $P < 0.01$)、回帰式は $y = 0.7227x - 0.0093$ であった。

考 察

DP法による尿蛋白の判定は、判定結果が-であれば、UPCがすべて正常値である0.2未満であることが犬で報告されている[6]。他の報告[7]でも、陰性反応(DP法のみによって)は微量アルブミン尿を除く蛋白尿のすべての形の存在を排除するのに十分であると述べられている。DP法による尿試験紙は現在十数社が販売しているが、いずれも蛋白誤差法が使われており、JCCLS提案指針[8]によって1+の濃度が30mg/dlと規定されており、どの試験紙を使用しても同様の傾向を示す。この研究でも、例数は少ないがDP法で尿蛋白の判定が-の場合、UPCは犬猫とも0.2未満であった。一方、DP法による判定が±、+、2+の検体は、液体法のUPCでみると非蛋白尿の場合と、ボーダーラインや明瞭な蛋白尿の場合があった。DP法で尿蛋白の判定が±、+、2+の場合、非蛋白尿、ボーダーライン、蛋白尿のすべての可能性があるため、UPCによって蛋白尿かどうかとその程度を確認する必要がある。

乾式法によるUPCと液体法によるUPCは、犬と猫の両方で高い相関係数を示した。このことは、犬と猫ではアイデックスラボラトリーズの乾式法によって求めた

UPCは、これまで検査センターに依頼して測定していた液体法によるUPCの代用になることを示す。乾式法の使用により、今後はUPCを院内で迅速に求め、即座に診断と治療に活かすことが可能となる。

IRISの基準では、UPCの測定法を規定していないが、UPCの基準は液体法による測定値であると考えられる。アイデックスラボラトリーズの乾式法によるUPCは、液体法によるUPCより高い傾向があり、補正式(犬： $y=0.8851x-0.1316$ 、猫： $y=0.7227x-0.0093$)によって、液体法によるUPCに換算して尿蛋白を評価した方が、より正確となると考えられた。

本研究の実施にあたり、検査機器、検査試薬をご提供いただいたアイデックスラボラトリーズ(株)に深謝する。

引用文献

- [1] Adams LG, Polzin DJ, Osborne CA, O'Brien TD : Correlation of urine protein/creatinine ratio and twenty-four-hour urinary protein excretion in normal cats and cats with surgically induced chronic renal failure, *J Vet Intern Med*, 6, 36-40 (1992)
- [2] Nabity MB, Boggess MM, Kashtan CE, Lees GE : Day-to-day variation of the urine protein: creatinine ratio in female dogs with stable glomerular proteinuria caused by X-linked hereditary nephropathy, *J Vet Intern Med*, 21, 425-430 (2007)
- [3] Vaden SL, Pressler BM, Lappin MR, Jensen WA : Effects of urinary tract inflammation and sample blood contamination on urine albumin and total protein concentrations in canine urine samples, *Vet Clin Pathol*, 33, 14-19 (2004)
- [4] Watanabe N, Kamei S, Ohkubo A, Yamanaka M, Ohsawa S, Makino K, Tokuda K : Urinary protein as measured with a pyrogallol red-molybdate complex, manually and in a Hitachi 726 automated analyzer, *Clinical Chemistry*, 32, 1551-1554 (1986)
- [5] Suzuki M, Yoshida M : A new enzymatic serum creatinine measurement based on an endogenous creatine-eliminating system, *Clin Chim Acta*, 143, 147-155 (1984)
- [6] Zatelli A1, Paltrinieri S, Nizi F, Roura X, Zini E : Evaluation of a urine dipstick test for confirmation or exclusion of proteinuria in dogs, *Am J Vet Res*, 71, 235-240 (2010)
- [7] Lees GE, Brown SA, Elliott J, Grauer GF, Vaden SL : Assessment and management of proteinuria in dogs and cats: 2004 ACVIM forum consensus statement (Small Animal), *J Vet Intern Med*, 19, 377-385 (2005)
- [8] JCCLS尿検査標準化委員会 : 「尿試験紙検査法」JCCLS提案指針(追補版)尿蛋白,尿ブドウ糖,尿潜血試験部分表示の統一化,日本臨床検査標準協議会会誌, 19, 53-65 (2004)

Estimation of Urine Protein with Dip-Stick, Dry Chemistry Analyzer, and Liquid-treating Methods in Dogs and Cats

Yasuhito KUWAHARA^{1)†}, Akemi NISHINO¹⁾, Norie KUWAHARA¹⁾, Naohito NISHII²⁾, Satoshi TAKASHIMA²⁾, Tatsuya MATSUBARA²⁾ and Hitoshi KITAGAWA²⁾

1) *Kuwahara Animal Hospital, 2024-1 Hakamae, Nakashidami, Moriyama-ku, Nagoya, 463-0002, Japan*

2) *Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu, 501-1193, Japan*

SUMMARY

We evaluated urine protein using the dip-stick (DP) method and the urine protein/creatinine ratio (UPC) determined with a dry-chemistry analyzer (dry method), and then compared the results with the UPC determined by liquid-treating method used on 30 dogs and 30 cats. In both dogs and cats, the urine samples determined to be negative by the DP method were non-proteinuric (<0.2 in UPC). However, the samples estimated as ±, + or 2+ by DP method involved non-proteinuric, borderline proteinuric (dogs: 0.2 to 0.5; or cats: 0.2 to 0.4 in UPC), and proteinuric (dogs: >0.5 or cats: >0.4 in UPC) samples. Therefore, proteinuria needs to be confirmed in these urine samples by determining the UPC. The UPC determined by the dry method was significantly correlated with the liquid-treating method both in dogs and cats, and could be used in place of the UPC determined by the latter. The UPC determined by the dry method was higher than that determined by liquid-treating method. Thus, the transformation formulas ($y=0.8851x-0.1316$ in dogs; and $y=0.7227x-0.0093$ in cats) might be useful for converting the data determined by the dry method to that determined by the liquid-treating method. — Key words : Dip-stick method, dry-chemistry analyzer, liquid-treating method, urine protein, urine protein/creatinine ratio.

† Correspondence to : Yasuhito KUWAHARA (*Kuwahara Animal Hospital*)

2024-1 Hakamae, Nakashidami, Moriyama-ku, Nagoya, 463-0002, Japan

TEL · FAX 052-736-9948 E-mail : asuna@yk.commuja.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 69, 533~537 (2016)