

医学生化

直接法测定低密度脂蛋白胆固醇

袁德辉 林 革 陈坚泳

(广州医学院附属市二人民医院, 广州 510150)

摘要 为了提高血脂检验技术, 探讨直接法测定低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C), 选用市售的两种直接测定 LDL-C 的试剂盒进行方法学的实验评价, 结果表明: 直接法具有简便、快速、准确和适合自动分析等特点. 两种试剂盒的测定结果都能满足建立分析方法要求的目标, 不精密度 $< 4\%$, 两法显著相关 $r = 0.994$, $\hat{y} = 1.0572x - 0.1052$, $S_{y/x} = 0.1913$, 且各种方法学检验结果相近, 使用者可结合实际选作常规测定之用.

关键词 低密度脂蛋白胆固醇, 直接测定法, 试剂盒

学科分类号 R446, 112

众多研究已经清楚地证实了低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平与动脉粥样硬化 (AS)、冠心病 (CHD) 的发病率呈正相关. 美国国家胆固醇教育计划 (NCEP) 成人治疗专业组以及 NCEP 的儿童和青少年治疗专业组已规定以 LDL-C 浓度作为高脂血症的分类与治疗的首要根据. 可见测定 LDL-C 对高脂血症的诊断、分类与治疗起着重要的作用. 已有多项 LDL-C 测定方法的报道^[1], 但到目前为止还没有一种方法像测定总胆固醇 (TC) 一样被使用者一致赞成、一致确认的好方法. Nader 等^[2]报告应用均相酶 LDL-C 直接测定法, 并与超速离心法作比较, 其相关性良好, 能适用于高胆固醇血症病人的诊断与治疗, 直接测定法能满足建立分析方法要求的目标. 我们为了解决 LDL-C 测定的方法问题, 选用了两种市售均相酶 LDL-C 直接测定法试剂盒进行实验探讨, 现报告如下.

1 材料与方法

1.1 仪器

日立 7170A 型全自动生化分析仪.

1.2 标本

LDL-C 浓度高、中、低值无溶血、无黄疸、无混浊的混合血清和 71 例对比测试血清标本均取自临床新鲜血清, 分别储存于冰箱.

1.3 试剂和测定参数

1.3.1 A 法: D-LDL-CHO 测定试剂盒 (批号: 990202), 标准品: 4.78 mmol/L LDL-C 校正物 (批号: 990302). 由北京中生生物工程高技术公司

提供.

实验参数: 两点终点法, 主波长 600 nm, 副波长 700 nm, 反应温度: 37℃, 标本 3 μ l, 试剂 1 (R1) 225 μ l, 反应 5 min; 加试剂 2 (R2) 75 μ l, 5 min 后读取吸光度.

1.3.2 B 法: LDL-C 测定试剂盒 (Lot №104RJV), 标准品: 2.927 mmol/L LDL-C 校正物: (Lot № 106KGV), 由日本第一化学药品株式会社生产. 实验参数: 参照试剂盒说明书.

1.3.3 甘油三酯 (GPO-POD 法)、总胆固醇 (CHO 法) 和高密度脂蛋白胆固醇 (直接法) 试剂盒由北京中生生物工程高技术公司生产.

2 实验结果

2.1 批内和批间不精确度

取 LDL-C 浓度高、低值两个混合血清用两种方法作 20 次重复测定作批内不精确度试验; 另从冰箱取出预先分装好的标本, 每日一支做双份测定, 共测 10 d 作批间不精确度试验, 结果见表 1.

表 1 批内和批间不精确度测定结果

方法	标本	$\bar{x}$ (批内) /mmol·L ⁻¹	CV/%	$\bar{x}$ (批间) /mmol·L ⁻¹	CV/%
A	I	1.55	1.80	1.57	2.69
	II	8.54	1.14	8.63	3.57
B	I	1.57	1.60	1.53	2.10
	II	8.44	1.05	8.50	3.23

Tel: (020) 81815321-4205, E-mail: www.G2SEYY.com

收稿日期: 1999-12-30, 修回日期: 2000-02-24

2.2 标本保存稳定性试验

应用分装好的中值混合血清 LDL-C 为 3.73 mmol/L, 分别在 4℃ 和 -20℃ 中保存, 于开始 1 周、2 周、3 周和 4 周分别进行双份测定, 各周的测定与开始测定结果之间最大偏差. A 法: 4℃ 为 2.8% 和 -20℃ 为 3.6%; B 法: 4℃ 为 2.3% 和 -20℃ 为 3.1%.

2.3 线性情况

把测定 LDL-C 平均值为 8.32 mmol/L 混合血清用生理盐水作 1/5、2/5、3/5 和 4/5 梯度稀释与原血清共 5 个不同浓度作线性试验, 结果至 8.32 mmol/L 范围时, 两法线性良好. 回归方程 (X 为浓度, Y 为吸光度), A 法: $Y = 468.45X - 13.9$, $r = 0.9992$; B 法: $Y = 805.79X - 5.90$, $r = 0.9997$.

2.4 回收试验

在一个 LDL-C 浓度为 3.11 mmol/L 的血清标本中分别加入各自的标准品, 进行回收试验. 各测三次得平均回收率 A 法为 101.8% 和 B 法为 100.6%.

2.5 干扰实验

2.5.1 溶血对测定 LDL-C 的影响: 用洗涤 5 次的人红细胞制成高 Hb 溶液, 将 LDL-C 浓度为 3.11 mmol/L 的原血清稀释成 2.8~11.2 g/L 的 4 个 Hb 浓度血清标本, 并用两种方法进行测定, 结果表明溶血对 LDL-C 测定两种方法都有轻度的正干扰. 当 Hb 在 11.2 g/L 时分别出现 A 法有 3.9% 和 B 法有 4.7% 的正干扰.

2.5.2 胆红素对测定 LDL-C 的影响: 用胆红素标准液 (Bekman 公司生产) 将 LDL-C 浓度为 5.46 mmol/L 的混合血清稀释成 37~263 $\mu\text{mol/L}$ 4 个浓度胆红素血清标本, 通过两种方法测定 LDL-C, 结果显示两法在 188 $\mu\text{mol/L}$ 时已有轻微的负干扰, 至 263 $\mu\text{mol/L}$ 时分别出现 A 法有 4.5% 和 B 法有 5.1% 负干扰.

2.6 对比试验

2.6.1 A 法与 B 法的实验比较: 对 71 例甘油三酯 (TG) 浓度在 0.69~25.33 mmol/L 之间的血清样品, 应用两种方法同时测定 LDL-C, 结果见图 1.

2.6.2 两种 LDL-C 直接法测定与 Friedewald 公式计算结果的比较: 50 例 TG 浓度 < 4.52 mmol/L, 无溶血、无黄疸和无混浊的血清标本, 测 TC、TG、HDL-C, 另用两种直接法测定 LDL-C 的结果分别与 Friedewald 计算结果比较, 回归分析结果 A

法: 计算法 = 0.9326 A 法 + 0.1889, $r = 0.976$, $S_{y/x} = 0.3195$; B 法: 计算法 = 0.9801 B 法 + 0.0873, $r = 0.984$, $S_{y/x} = 0.2611$.

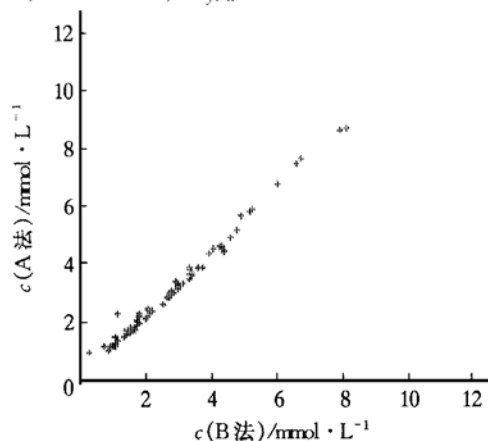


图 1 A 法与 B 法测定 LDL-C 结果比较

$n = 71$, $r = 0.994$, $\hat{y} = 1.0572x - 0.1052$, $S_{y/x} = 0.1913$.

3 讨 论

被认可“金标准”的超速离心法测定 LDL-C, 由于设备昂贵、操作复杂、需要前处理步骤、血清标本需要离心达 18 h^[3], 因此在一般实验室难以开展. 而化学沉淀法和免疫分离法都受 TG 不同程度的影响, 也不能测定所有 LDL 组分. 至今较多临床实验室仍用 Friedewald 公式计算 LDL-C 浓度, 从对比试验中看到直接测定法与计算法结果有显著相关, 但 Friedewald 计算法对禁食不严、III型高脂血症和 TG 浓度高于 4.52 mmol/L 的病人, 其计算结果是无效的. 此外, 计算值还要结合 TG、CT、HDL-C 的分析误差和病人的生理变异, 计算结果要达到美国国家胆固醇教育计划 (NCEP) 的实验室标准计划 (LSP), LDL-C 的分析目标是很困难的. 从我们以上的实验结果表明, 两种均相酶 LDL-C 直接测定法的精密度、线性范围、回收试验等方面都能满足当前建立分析方法的要求目标, 实验最大不精确度 A 法为 3.57%, B 法为 3.23%, 都在 NCEP 的分析目标 < 4% 范围内. 在稳定性实验中, 可见 LDL-C 血清标本在四周内无论存放在 4℃ 或 -20℃ 都同样稳定, 最大的一个分析偏差只有 3.6%. 同时发现这两个试剂盒测试完后放回冰箱比留在仪器试剂盘内的稳定时间要长, 如发现 A 法结果偏高, B 法结果偏低时, 说明试剂稳定性已改变, 需立即更换.

总之, 均相酶 LDL-C 直接测定法的两个试剂盒都具有使用简便、快速、准确, 适用于自动分析

等特点, 抗干扰能力强, 有较大的实用价值, 而且通过以上实验结果表明国产 (中生公司) 和进口的 LDL-C 试剂盒各种试验结果相近, 使用者可结合实际选作常规测定之用。

参 考 文 献

- 1 盛恺, 宋耀虹. 低密度脂蛋白胆固醇的检测方法与标准化研究. 中华医学检验杂志, 1998, 21 (6): 328~331
Yan S K, Song Y H. Chinese Journal of Medical Laboratory Sciences, 1998, 21 (6): 328~331
- 2 Nader R, Elizabeth L, Kristn D, *et al.* Analytical and clinical performance of a homogeneous enzymatic LDL-cholesterol assay compared with the ultracentrifugation-dextran sulfate Mg^{2+} method. Clin Chem, 1998, 44 (6): 1242~1250
- 3 Belcher J D, Mcnamara J R, Grinstead G F, *et al.* Measurement of low density lipoprotein cholesterol concentration. In: Riai N, Wanick G R, eds. Methods for Clinical Laboratory Measurement of Lipid and Lipoprotein Risk Factors. Washington DC: AACC Press, 1991. 80-81.

Direct Measurement of Low Density Lipoprotein Cholesterol. YUAN DeHui, LIN Ge, CHEN Jian-

Yong (Guangzhou Second People's Hospital, Guangzhou 510150, China).

Abstract To evaluate the direct measurement of low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and improve the technology, a comparison study between 2 reagents kits for the application, which are commercially available now, is hereby reported. It shows the advantage of direct measurement is simple, rapid, accurate and suitable for auto-analysis. Both of the 2 reagent kits could meet the currently established analytical performance goals. Analytical $CV < 4\%$, significant correlation ($r = 0.994$, $\hat{y} = 1.0572x - 0.1052$, $S_{y/x} = 0.1913$), with similar results of many tests, the 2 kits could be used for routine applications according to the user's real situation.

Key words LDL-cholesterol, direct measurement, reagent kit

欢迎订阅 2001 年新版《昆虫知识》

《昆虫知识》1955 年创刊, 该刊是以普及与提高相结合、基础知识和应用并重的综合性昆虫学期刊。以及时报道昆虫学研究最新科研成果, 介绍新技术新方法, 普及基础知识, 提高基础理论水平, 促进学术交流为主要办刊宗旨。以理论联系实际、普及与提高相结合为主要办刊方针。为我国昆虫学科基层研究队伍的不断壮大和繁荣以及为国民经济建设服务为主要任务。辟有专题综述、研究报告、研究简报、基础知识、实验技术、信息与动态、书刊评介、学术讨论等栏目。学科范围和内容包括农、林、牧、医、仓储、检疫等重要害虫的发生与防治, 资源、食用、药用、天敌昆虫等益虫的利用与开发。

《昆虫知识》被国内外 10 余种检索机构收录, 并被列为中国自然科技期刊的重要核心刊物, 1998 年被引频次最高中国科技期刊 500 名排行榜名次为 122。曾连续荣获多项国家和部级优秀期刊奖。

《昆虫知识》2001 年新增加页码, 调整栏目, 调整价格。欢迎投稿, 欢迎刊登广告。广告价格: 封 3 整版 1500 元, 封 4 整版 2000 元, 内页整版 800 元, 彩色另加 1000 元, 连续刊登优惠 10%~20%。

《昆虫知识》目前为双月刊, 16 开本, 80 页/期, 定价: 12 元/期, 72 元/年

国际刊号: ISSN 0452-8255, 国内刊号: CN 11-1829/Q

国内邮发代号: 2-151, 国外邮发代号: BM 407

地址: 北京海淀区中关村路 19 号 中国科学院动物研究所《昆虫知识》编辑部

邮政编码: 100080

电话: (010) 62552266 传真: (010) 62565689

E-mail: Wangji@panda.ioz.ac.cn