

含乳糜微粒血清对三酰甘油测定准确度的影响

徐 灵,董成林[△],蔡 娟,崔邦铨(上海中冶职工医院检验科 200941)

【摘要】 目的 提高含乳糜微粒血清对三酰甘油测定的准确度。方法 对 30 例富含乳糜微粒的血清标本分别采用常规操作方法(常规法)和自行设计的吸样操作步骤(改良法)进行三酰甘油测定。结果 乳糜微粒层高 1~3 mm 时,常规法测定的三酰甘油含量明显低于改良法,差异有统计学意义($P < 0.01$);当乳糜微粒层高大于 4 mm 时,两种方法检测的三酰甘油含量差异无统计学意义($P > 0.05$)。同时,含量相对低的乳糜微粒标本,三酰甘油测定结果明显偏低。结论 用改进的吸样操作方法进行三酰甘油测定,可较准确地测定三酰甘油含量。

【关键词】 乳糜微粒; 三酰甘油; 准确度

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.13.042 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)13-1839-02

准确测定患者三酰甘油含量,可以给临床提供客观的依据,以便对高脂血症患者脂质代谢情况、疾病危害程度、降脂药物选择和药效监测有一个全面评价。三酰甘油在血液中处于脂蛋白的核心,并以脂蛋白形式运输,在各种脂蛋白中,乳糜微粒、极低密度脂蛋白和其残粒的三酰甘油含量较高^[1]。含乳糜微粒的血液标本,离心分离血清后低密度的乳糜微粒上浮到表层,从而影响自动生化分析仪测定三酰甘油的结果。自动生化分析仪的样本针感应器层面高度一般为 3 mm,当标本乳糜微粒含量过高,其层高大于 3 mm 时,样本针抽取的全是乳糜微粒,其三酰甘油的测定结果会明显偏高。反之,当乳糜微粒相对含量较低,乳糜微粒层高小于 3 mm 时,样本针抽取的是下面不含乳糜微粒的标本,会导致检测结果明显偏低。用常规操作步骤(常规法)进行测定,会影响三酰甘油的测定结果。本研究对常规操作法的加样步骤加以改进(改良法),从而提高三酰甘油测定的准确度,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院高脂血症患者的标本 5 例,经脂蛋白电泳分型,2 例为 I 型高脂血症,电泳区带染色时仅在标本原点呈现深染,3 例为 V 型高脂血症,电泳区带染色除在原点处深染外,前 β 区也呈现明显的深染;25 例健康志愿者标本。在脂肪餐后 2 h 抽取静脉血,脂肪餐的食品为每人采血前 2 h 食用 2 个油煎鸡蛋和 250 mL 含脂牛奶。以上每个被测者同时以 13 mm \times 100 mm 的普通试管采静脉血标本 2 份,每份标本量均为 5 mL。

1.2 仪器与试剂 WZICU600 型 37 $^{\circ}$ C 恒温水浴箱(上海医疗器械有限公司);7180 型全自动生化分析仪(日本日立公司);三酰甘油酶比色法(GPO-PAP)双试剂检测试剂盒(南京威特曼公司)。其中三酰甘油试剂测定的线性范围为 0.0~11.3 mmol/L,最大测定峰值为 23.0 mmol/L,主要性能参数与文献^[2-3]报道基本一致。

1.3 方法

1.3.1 血清初步分离 血液标本采集后于室温(21~25 $^{\circ}$ C)放置 30~60 min,待标本完全自然凝固后,以 3 000 r/min 离心 10 min,及时分离血清备用;同时用游标卡尺测量血清中乳糜微粒的层高并加以记录。

1.3.2 常规法测定三酰甘油 对于 30 例不同含量的乳糜微粒标本,离心分离血清后直接上机,以常规法进行三酰甘油测定^[4]。

1.3.3 改良法测定三酰甘油 同批另外 30 例标本三酰甘油的测定采用自行设计的改良操作方法:即初步分离血清后,尽可能将全部血清吸出,移至和常规操作相同口径的试管,然后将血清置于 37 $^{\circ}$ C 水浴箱温育 10 min,颠倒混合后立即上机测定。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件统计分析,三酰甘油测定值用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组测定结果比较采用配对 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

对 30 例含有乳糜微粒的标本经离心分离血清后,用游标卡尺测量乳糜微粒的层高,其中层高 1 mm 的有 10 例,2 mm 的有 8 例,3 mm 的有 6 例, ≥ 4 mm 的有 6 例,分别用常规法和改良法进行三酰甘油测定,见表 1。

表 1 两种方法测定含乳糜微粒标本三酰甘油结果 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

检测方法	乳糜微粒层高(mm)			
	1(n=10)	2(n=8)	3(n=6)	≥ 4 (n=6)
常规法	2.35 \pm 0.77	3.81 \pm 0.25	5.61 \pm 0.29	22.80 \pm 0.06
改良法	7.78 \pm 0.12	12.44 \pm 0.70	17.82 \pm 0.39	22.14 \pm 0.59
t	>3.250	>3.499	>4.032	2.546
P	<0.01	<0.01	<0.01	>0.05

3 讨论

遗传和环境因素均在高三酰甘油血症的病因学中起重要作用^[5]。当存在脂蛋白酯酶或载脂蛋白 C-II 的缺陷或脂肪酶成熟因子 1 发生突变等情况时,富含三酰甘油的乳糜微粒和极低密度脂蛋白分解代谢发生障碍,进而引起高乳糜微粒血症,临床上可表现为严重的高三酰甘油血症^[6]。另据报道,由于生活方式的改变,高脂血症性胰腺炎(HLAP)的发病率在我国呈逐渐增高趋势。HLAP 患者表现为乳糜微粒和极低密度脂蛋白增加,三酰甘油含量常大于或等于 11.3 mmol/L^[7-8]。病理状态下,三酰甘油的准确测定可以反映患者脂质代谢紊乱的程度,对判断疾病的进程和预后有重要意义。

三酰甘油的测定方法比较多,一般可分为化学法、酶法和色谱法三大类,常见报道的研究方法有乙酰丙酮测定法、变色酸显色法、同位素稀释液相色谱质谱法、薄层色谱法、高效液相

[△] 通讯作者, E-mail: dongclbs@163.com。

色谱法、酶法等。由于酶法的简便、快速、微量、精密度高、反应特异、线性范围宽、试剂较稳定且易于自动化等优点,目前国内、外实验室均建立了自动化生化检测平台,大都采用酶法检测血清中三酰甘油含量。

基于全自动生化分析仪样本针的液面探测原理,乳糜微粒的存在影响着三酰甘油测定的准确性。生化分析仪样本针与机架之间存在一个电容效应,其容量在样本针接触液面的瞬间产生一个突变,经过一系列电路转换和信号处理,最终触发液面探测信号形成,从而准确感应到液面^[9]。因此,只需要控制加样针接触到液面后下降同样的高度,就可以使加样针插入不同液体(样本或试剂)的相同高度变成了可能^[10]。包括日立7180型自动生化分析仪在内的自动化仪器均采用以上的液面探测原理来完成标本和试剂的加样。据厂商提供的数据,7180型自动生化分析仪在加样针感应到液面后下降的深度为3 mm,由于乳糜微粒密度低,离心后上浮在血清表层,故乳糜微粒含量多少(主要是层高)对测定血清中三酰甘油含量有很大影响。乳糜微粒层高大于3 mm的标本加样时,样本针抽取的完全是乳糜微粒层,三酰甘油测定结果比实际明显增高。反之,血清中虽含有乳糜微粒,但乳糜微粒的液面层高小于3 mm加样时,抽取的是下层不含乳糜微粒的血清,故三酰甘油测定结果比实际明显偏低。

由表1可见,乳糜微粒的标本层高在1 mm时,常规法和改良法测定三酰甘油含量分别为(2.35±0.77) mmol/L和(7.78±0.12) mmol/L;层高在2 mm时分别为(3.81±0.25) mmol/L和(12.44±0.70) mmol/L;层高在3 mm时分别为(5.61±0.29) mmol/L和(17.82±0.39) mmol/L,二者之间差异有统计学意义($P<0.01$)。而乳糜微粒的标本层高大于或等于4 mm时,常规法和改良法测定三酰甘油含量分别为(22.80±0.06) mmol/L和(22.14±0.59) mmol/L,差异无统计学意义($P>0.05$)。

常规法导致富含乳糜微粒的血清标本三酰甘油测定结果偏差的原因:(1)乳糜微粒层高1 mm和2 mm的标本用日产7180型全自动生化分析仪测定时,样本针感应面为3 mm,故加样时会穿过乳糜微粒层,因吸不到乳糜微粒而导致三酰甘油测定值较实际真值明显偏低。(2)乳糜微粒层高为3 mm的标本,由于样本针进样孔呈斜面状,因此进样时只能吸到部分乳糜微粒,测定结果也会偏低,并且此组测定值变化较大。(3)乳糜微粒层高大于或等于4 mm的标本,三酰甘油测定结果相差较小,原因是常规法和改良法测定三酰甘油所采用的酶比色法试剂,测定的线性范围为0.0~11.3 mmol/L,最大测定峰值仅为23.0 mmol/L^[11],按理论推算纯乳糜微粒的三酰甘油含量远远高于23.0 mmol/L,两种方法所测得的结果均达到了最大测定峰值,这是方法学的局限性所造成的,此时的测定值也是与实际不相符合的。

作者认为,凡是血清标本中含有乳糜微粒时,不管其含量多少,均不适宜用常规法测定三酰甘油含量。因为低密度的外源性三酰甘油经离心后浮至液面上层,导致全自动生化分析仪加样时无法吸到该层的三酰甘油,从而使检测结果明显低于实际值。另外,在高脂血症患者中存在少数I型和V型的家族遗传性高脂血症患者,此时应用常规三酰甘油测定法检测,其三酰甘油测定值与标本实际三酰甘油含量差异更大。由于受到

测定线性范围0.0~11.3 mmol/L的限制,当三酰甘油实际含量超过11.3 mmol/L时,有必要将富含外源性三酰甘油的标本进行相应倍数的稀释,以调节检测结果在线性范围之内,再用改良法进行三酰甘油测定,测定结果乘以稀释倍数后算出三酰甘油含量,此时的测定结果更接近于标本的实际三酰甘油含量。有了准确的三酰甘油测定结果,临床医务人员可以根据血脂异常管理指南对高三酰甘油血症患者提出治疗策略,指导患者改变饮食结构、优化生活方式,必要时可考虑加用降脂药物,以减少心、脑血管事件发生的风险。

综上所述,就目前常规自动化酶法检测三酰甘油的操作规程而言,由于自动生化分析仪加样时的感应深度是固定的(液面下3 mm),而低密度的乳糜微粒经离心后浮于液面上层,导致被测标本血清中三酰甘油分布不均,上述2个因素的存在,不可避免地影响常规法测定三酰甘油的准确度,不能真实反映患者三酰甘油实际含量。作者设计的改良三酰甘油测定法,操作相对严密,推荐将含有乳糜微粒标本的血清全部吸出并采用37℃恒温水浴箱温育10 min,有利于提高三酰甘油在血清中的相容性,并且颠倒混合后即刻上机测定,最大限度使乳糜微粒中的三酰甘油在血清标本中均匀分布,以保证不同层面高度的血清样本中三酰甘油含量相同,从而得出相对准确的测定结果,更好地指导临床。改良法操作简单易行,便于各临床实验室推广和应用。

参考文献

- [1] 鄢盛恺,夏良裕.血清甘油三酯的测定方法与标准化研究最新进展[J].中华检验医学杂志,2005,28(4):454-456.
- [2] 王岚.用两种试剂检测血清甘油三酯的线性及偏差比较[J].齐鲁医学检验,2005,16(5):28-30.
- [3] 郭金英,张开红,李鹏,等.罗氏 Modular 全自动生化分析系统脂类项目性能验证实验分析[J].长治医学院学报,2012,26(3):176-180.
- [4] 叶应妩,王毓三,申子瑜,等.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:东南大学出版社,2006:480-486.
- [5] Blom DJ. Hypertriglyceridaemia; Aetiology, complications and management[J]. J Endocr Metab Diabetes SA, 2010, 15(1):11-17.
- [6] 田国平,陈五军,何平平,等.脂蛋白酯酶研究进展及对动脉粥样硬化的影响[J].生理科学进展,2012,43(5):345-349.
- [7] 刘俊,易晓雷.高脂血症相关胰腺炎的诊治:附19例报告[J].中国普通外科杂志,2012,21(9):1161-1162.
- [8] 刘琴,李建国.高脂血症急性胰腺炎临床特点分析[J].中国医师杂志,2013,15(3):401-403.
- [9] 季国伟. AU5400生化仪液面探测原理分析[J].中国医学装备,2010,7(7):52-53.
- [10] 程剑锋.基于单片机的接触式液面检测系统[J].机械工程与自动化,2009,38(6):49-50.
- [11] 查锡良,周春燕.生物化学[M].7版.北京:人民卫生出版社,2008:151.