· 检验技术与方法 ·

两种方法检测 HDL-C 对代谢综合征诊断的影响

李俊立[1]，王昌富[1△]，万　靖[2]，胡　沛[3]，唐　全[1]，彭长华[1]，鄢　斌[1]
（华中科技大学同济医学院附属荆州医院：1. 检验科；2. 内分泌科；3. 心血管内科，湖北荆州 434020）

摘　要：目的　评估两种方法检测高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）对代谢综合征（MS）的诊断影响。**方法**　采用选择性抑制法（PPD 法）和过氧化氢酶清除法（CAT 法）检测 287 例患者血清 HDL-C 浓度，评估两种方法学间的差异、两组结果产生的 MS 诊断结论的差异及一致性。**结果**　287 例患者两种方法 HDL-C 检测结果无统计学差异（$P>0.05$），当低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）>6.0 mmol/L 时，两组结果间具有统计学差异（$P<0.05$），两组 MS 诊断结论没有统计学差异（$P>0.05$），一致性为 97.6%。**结论**　PPD 法和 CAT 法检测血清 HDL-C 对 MS 临床诊断没有显著影响。

关键词：脂蛋白类，HDL；　脂蛋白类，LDL；　选择性抑制法；　过氧化氢酶清除法；　代谢综合征
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2013.01.037　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2013)01-0081-02

代谢综合征（MS）是以肥胖、糖尿病或糖调节受损、高三酰甘油血症和低高密度脂蛋白血症为特点的血脂紊乱为临床表现的一组综合征，此类患者心血管疾病和（或）Ⅱ型糖尿病发病风险大大增加。高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）是 MS 诊断指标之一。本研究主要对两种方法检测 HDL-C 的结果差异对 MS 临床诊断的影响进行了评估。

1　资料与方法

1.1　资料与方法　本院内分泌科与心血管内科 2012 年 4～6 月收治的患者 287 例，男 102 例、女 185 例，年龄 21～82 岁，平均 51.5 岁。

1.2　仪器及试剂　DXC800 全自动生化分析仪（美国贝克曼）；选择性抑制法（PPD 法）、过氧化氢酶清除法（CAT 法）HDL-C 检测试剂与校正品（四川迈克），质控品（美国 BIO-RAD）。仪器性能评价证实不存在携带污染，两种测定方法检测系统校准后质控品检测结果均在控制范围内，PPD 法检测系统参与全国室间质评成绩全部合格，CAT 法检测结果可溯源至中国疾病预防控制中心（CDC）网络实验室 BMG 参考方法。

1.3　方法　患者空腹 12～16 h 后采集静脉血，分离血清标本后用两种方法进行 HDL-C 检测，并同时检测总胆固醇（TCH）、三酰甘油（TG）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）。

1.4　统计学处理　采用 Excel2000 和 SPSS11.0 软件包进行数据统计学分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示；对 LDL-C>6.0 mmol/L 的患者 HDL-C 检测结果进行配对 t 检验以评估不同检测方法的结果差异；依据诊断标准[1]，并结合各指标检测结果对患者做出诊断，计算发病率，对两种方法的诊断结果进行配对卡方检验以评估诊断构成比差异；对两种方法诊断结果进行 Kappa 检验以评估一致性；显著性检验水准为 $\alpha=0.05$。

2　结　　果

287 例患者血清标本及 32 例 LDL-C>6.0 mmol/L 的标本 HDL-C 检测结果见表 1。根据 PPD 法 HDL-C 检测结果结合相关指标，287 例患者 MS 诊断率为 31.7%（91/287），根据 CAT 法检测结果，MS 诊断率为 32.8%（94/287），二者无统计学差异（$\chi^2=1.33$，$P>0.05$）。对两种方法诊断结果（符合或不符合 MS 诊断标准）进行 Kappa 一致性检验，Kappa 值为 97.6%。

表 1　两种方法 HDL-C 检测结果比较（$\bar{x}\pm s$，mmol/L）

方法	患者标本（$n=287$）	LDL-C 高浓度标本（$n=32$）
PPD 法	1.16±0.31	1.08±0.16*
CAT 法	1.16±0.34	0.84±0.11*

*：与 CAT 法检测结果比较，$t=13.17$，$P<0.05$。

3　讨　　论

国内血清 HDL-C 检测试剂多采用 PPD 法，但其特异性不高[2]。由于质量改进的需要，笔者所在科室决定采用 CAT 法检测试剂，并根据《医疗机构临床实验室管理办法》、ISO15189 及相关 EP 文件的要求对新的检测系统进行了验证，各验证指标均满意。然而，笔者认为新检测系统的验证不应只局限于检测系统本身，更应进行相关疾病的临床符合性验证，该观点在国内尚未见提出。

部分方法学之间的差异在健康人群中不具有统计学意义，但会出现在患者群体中[3]。本研究结果显示，对于总体样本而言，两种方法学间的差异并不具有统计学意义，但在 LDL-C>6.0 mmol/L 的标本中，两种方法检测结果间的差异具有统计学意义，这可能是因为 PPD 法检测试剂中含有反应抑制剂，在吸附 LDL-C 颗粒形成遮蔽圈时不能将其完全遮蔽，以致部分 LDL-C 参与反应而使 HDL-C 浓度假性增高，而 CAT 法可将 LDL-C 颗粒完全清除[4-5]，因此特异性相对较强，检测结果也更接近于真值，由此造成 LDL-C 较高时 CAT 法 HDL-C 检测结果显著低于 PPD 法。另一方面，当 LDL-C 浓度较高时，TG 浓度一般也较高，这也有可能是导致两种方法检测结果存在差异的因素之一[6]。

由于两种方法检测结果存在部分差异，因此受试者的诊断结果也不尽相同，这种差异是否会对 MS 的临床诊断产生影响也是本研究的目的所在。依据 PPD 法和 CAT 法 HDL-C 检测结果，MS 诊断率分别为 31.7%、32.8%，均高于国内类似研究的报道[7-8]，这可能与研究对象的选择范围不同有关，但两组数据差异并不具有统计学意义，且两组结果所对应的 MS 诊断结论符合率达到 97.6%。笔者认为在 MS 诊断标准中 HDL-C 仅为可选择的因素之一，且权重有限，所以 HDL-C 检测方法学的更替对 MS 临床诊断不会产生显著影响。

参考文献

[1]　中华医学会糖尿病学分会代谢综合征研究协作组. 中华医学会糖尿病学分会关于代谢综合征的建议[J]. 中华糖尿病杂志，2004，12(2)：156-160.

[2]　Huang YC，Kao JT，Tsai KS. Evaluation of two homogeneous methods for measuring high-density lipoprotein cholesterol[J]. Clin Chem，1997，43(6)：1048-1055.

[3]　Miller WG，Myers GL，Sakurabayashi I，et al. Seven direct methods for measuring HDL and LDL cholesterol compared with ultracentrifugation reference measurement procedures[J]. Clin Chem，

△　通讯作者，E-mail：jzyyjyk@sina.com。

2010, 56(6): 977-986.
[4] Warnick GR, Nauck M, Rifai N. Evolution of methods for measurement of HDL-cholesterol: from ultracentrifugation to homogeneous assays[J]. Clin Chem, 2001, 47(10): 1579-1596.
[5] Contois JH, Warnick GR, Sniderman AD. Reliability of low-density lipoprotein cholesterol, non-high-density lipoprotein cholesterol, and apolipoprotein B measurement[J]. J Clin Lipidol, 2011, 5(4): 264-272.
[6] Perera NJ, Burns JC, Perera RS, et al. Adjustment of direct high-density lipoprotein cholesterol measurements according to intercurrent triglyceride corrects for interference by triglyceride-rich lipoproteins[J]. J Clin Lipidol, 2010, 4(4): 305-309.
[7] 王紫晨，方向华，汤哲，等. 不同代谢综合征诊断标准与中老年人心脑血管病患病率分析[J]. 中华老年医学杂志，2011，30(10): 871-875.
[8] 李玢，王永斌，杨卫红，等. 上海市奉贤东区 30 岁以上人群不同诊断标准下代谢综合征患病率调查[J]. 内科理论与实践，2010，5(3): 228-233.

(收稿日期：2012-07-23)

· 检验技术与方法 ·

外周血染色体制备改良方法的应用

谢志威，张　晶，李卫凯
(江门市中心医院检验科细胞遗传室，广东江门 529023)

摘　要：目的　探讨外周血淋巴细胞培养和染色体制备方法的改良与应用。**方法**　采用改良方法对 1 057 例成人外周血标本进行细胞培养及染色体制备。**结果**　1 057 例标本全部培养成功，所制备的染色体质量高。**结论**　改良方法可保证染色体标本的质量，且操作更方便快捷、重复性好，值得推广。

关键词：细胞培养技术；　染色体；　标本制备
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2013.01.038　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2013)01-0082-02

人类染色体分析技术在产前和产后诊断中发挥着非常重要的作用，外周血淋巴细胞染色体核型分析已成为产前诊断的常规检测项目。随着产前诊断的应用日益广泛，提高分析效率和保证分析结果准确性显得十分重要。笔者通过改良外周血细胞培养和染色体制备方法，在规范操作的同时有效节约了工作时间和人力资源，现将改良方法简介如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　2010 年于本院生殖中心就诊的成人 1 057 例，采集外周静脉血待测。

1.2　仪器与试剂　Maxchrome 染色体分散仪(北京中科汇文)。RPMI1640 培养瓶(广州达晖)[1]，秋水仙素 100 μg/mL、胰酶(美国 Gibco)，0.075 mol/L 氯化钾低渗溶液，新鲜配制的固定液(甲醇∶冰醋酸＝3∶1)，pH7.4 磷酸盐缓冲液，吉姆萨染液(湖南湘雅基因技术有限公司)。

1.3　方法　(1)向细胞培养液中无菌加入全血 0.5 mL，充分混匀后 37 ℃培养 68 h，收获细胞前 12 min 加入 100 μg/mL 秋水仙素 100 μL(传统方法为加入 25 μg/mL 秋水仙素 20 μL，继续培养 2 h)[2-3]。(2)将培养的细胞移入 10 mL 刻度离心管中，2 000 r/min 离心 10 min 后弃上清，加入 10 mL 预温 37 ℃的 0.075 mol/L 氯化钾低渗液，充分混匀，低渗 10 min(传统方法为低渗 30 min)。(3)向离心管中加入固定液 0.5 mL[4]，轻轻混匀后室温放置 5 min(传统方法为加入固定液 2 mL，室温放置 5 min)。(4)2 000 r/min 离心 10 min 后吸去上清液，加入新配制的固定液 10 mL，混匀后室温放置 30 min，重复以上固定步骤。最后根据细胞数量加入适量固定液制备细胞悬液，在 Maxchrome 染色体分散仪中分散染色体，参数设置为温度 25 ℃、相对湿度 50%，在仪器抽屉中放入干的载玻片(无需清洗)，向每张载玻片滴加 30 μL 细胞悬液，分散 5 min(传统方法为吸取 2～4 滴细胞悬液滴于清洗干净的冰冻载玻片上，酒精灯火焰下通过几次后晾干)。(5)染色显带方法参考《人类染色体方法学手册》[5]。

2　结　　果

改良外周血淋巴细胞培养和染色体制备方法获得的染色体分裂相多，分散良好，长短适中，吉姆萨染色显示带纹清晰，见图 1。

图 1　　改良方法制备的细胞染色体

3　讨　　论

改良外周血淋巴细胞培养及染色体制备方法与传统方法相比，在秋水仙素作用、低渗处理、预固定处理及染色体滴片等多个方面进行了改进和优化，下面就各方面分别进行讨论。

3.1　秋水仙素的作用浓度和时间　在血细胞培养时，秋水仙素加入剂量、浓度及处理时间与中期分裂相的多少和染色体长短有密切关系。秋水仙素加入过量或处理时间过长，可导致分裂细胞多，染色体凝集和收缩变小，或发生异常分裂现象，甚至染色体破碎，不宜用于染色体形态观察及计数；秋水仙素加入太少或处理时间偏短，可导致染色体形态偏长或无中期分裂相[6]。故需要准确控制秋水仙素剂量及处理时间。笔者将传统方法中秋水仙素终浓度 0.04 μg/mL 作用 2 h，改良为秋水仙素终浓度 2 μg/mL 作用 12 min，高浓度、短时间的秋水仙素作用不影响染色体分裂指数及长短，且大大节省了操作时间。

3.2　低渗处理方法和时间　低渗处理一方面诱导淋巴细胞膨胀，从而有利于染色体从细胞中分散出来，另一方面可溶解并清除红细胞。长时间(45～60 min)低渗处理将导致染色体更长、更黏、难以分散且显带质量不好；短时间低渗处理容易导致细胞质和细胞膜包裹在染色体周围，影响染色体分散和显带质量。Henegariu 等[7]研究认为 10 min 低渗处理对于人外周血淋巴细胞染色体制备已经足够。笔者的实践操作也表明，10