

• 质控与标规 •

酶法非酯化脂肪酸试剂盒在全自动生化仪 DXC-600 上的应用和性能评估

杨泽权¹, 黄盖鹏²

(1. 云南省曲靖市马龙县人民医院检验科, 云南曲靖 655199;

2. 宁波美康生物科技股份有限公司, 浙江宁波 315104)

摘要:目的 探讨酶法非酯化脂肪酸(NEFA)试剂盒在全自动生化仪上的应用及性能评估。方法 在 Beckman DXC-600 全自动生化仪上, 使用酶法 NEFA 试剂盒检测血清中的游离脂肪酸, 并对试剂盒的各项性能指标进行评估。结果 酶法 NEFA 试剂盒在 0~2.4 mmol/L 的范围内具有良好线性关系, 并具有较好的精密度, 批内 CV 为 0.49%, 试剂盒的稳定性高, 抗干扰能力强。结论 酶法 NEFA 试剂盒可以快速、有效的测定血清中的 NEFA 含量, 适合于医院临床实验室的批量检验工作。

关键词:游离脂肪酸; 酶法; 血清

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.22.051

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)22-3051-02

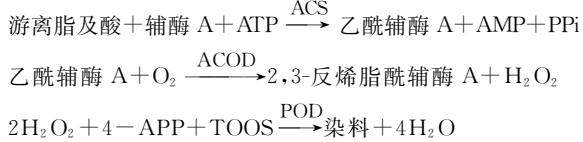
非酯化脂肪酸(NEFA)又称游离脂肪酸(FFA), 临幊上是指 C₁₀以上的脂肪酸。人正常血清中, NEFA 的主要成分有油酸(18:1, W9), 占 54%; 软脂酸(16:0), 占 34%; 硬脂酸, 另外还有月桂酸、肉豆蔻酸和花生四烯酸等含量很少的脂肪酸^[1]。NEFA 的测定方法有滴定法、比色法、原子吸收分光光度法、高压液相层析法和酶法。前三种方法准确性较差; 高压液相层析法^[2], 仪器与试剂花费较高。而酶法测定具有准确性高, 价格便宜, 可以使用生化仪进行批量操作, 因此适用于各类医院的分析检测工作。本文对 NEFA 酶法测定在 Beckman DXC-600 全自动生化仪上的应用和性能指标进行了探索。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 Beckman DXC-600 全自动生化仪, 游离脂肪酸检测试剂盒(酶法)购自宁波美康生物科技股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 原理 游离脂肪酸和辅酶 A 在乙酰辅酶 A 合成酶(ACS)的作用下生成乙酰辅酶 A。乙酰辅酶 A 在乙酰辅酶 A 氧化酶的作用下生成 H₂O₂, 后者可以通过 Trinder 反应在过氧化物酶(POD)的作用下生成有色产物。在 546 nm 处检测, 其吸光度与样本中的游离脂肪酸的浓度呈正比。



1.2.2 参数设置 分析类型: 终点法; 反应温度: 37 °C; 检测主/副波长: 560 nm/600 nm; 样本量: 4 μL; R1: 200 μL; R2: 50 μL; 反应方向: 向上。

2 结果

2.1 线性测定 取理论浓度为 2.4 mmol/L 高值的质控, 用水稀释成 3 个浓度, 分别为 1.8、1.2、0.6 mmol/L, 使用本法测定, 结果具有良好线性, 回归方程: Y = 0.888 3X - 0.008, r² = 0.999 9。

2.2 精密度试验 取 NEFA 含量约为 1 mmol/L 的血清, 连续测定 20 次, 计算批内精密度, 结果检测均值 1 mmol/L, s = 0.0049 mmol/L, CV = 0.49%。

2.3 相关性比较 取 32 例不同 NEFA 含量的血清, 同时用该试剂盒和国外知名公司 DIASYS 的试剂盒比较, 结果相关度高, 回归方程: Y = 0.912 1X + 0.162, r² = 0.999 2。

2.4 稳定性试验 将试剂开口置于 DXC-600 上, 分别于 0、3、5、7、14、21 d 测定低值和高值的样本, 以观察其开口稳定性。

结果发现见图 1。

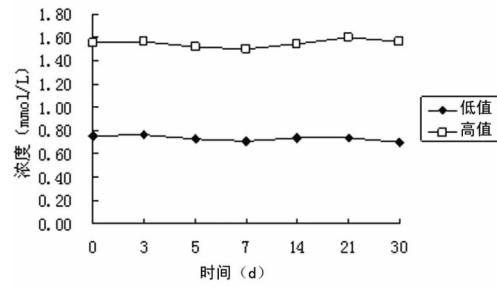


图 1 开瓶稳定性

表 1 干扰试验

干扰物	NEFA 基础浓度(mmol/L)	干扰物浓度(g/L)	加干扰物后检测浓度(mmol/L)	偏差(%)
维生素 C	0.47	0.08	0.48	2.1
	0.47	0.15	0.47	0.0
	0.47	0.23	0.46	-2.1
	0.47	0.30	0.32	-31.9
血红蛋白	0.37	6.25	0.40	8.1
	0.37	12.5	0.42	13.5
	0.37	18.75	0.43	16.2
	0.37	25.00	0.45	21.6
结合胆红素	0.42	0.02	0.38	-9.5
	0.42	0.04	0.35	-1.7
	0.42	0.07	0.29	-31.0
	0.42	0.14	0.20	-52.4
非结合胆红素	0.40	0.05	0.38	-5.0
	0.40	0.10	0.37	-7.5
	0.40	0.15	0.36	-10.0
	0.40	0.20	0.35	-12.5

2.5 干扰试验 取新鲜血清, 进行各干扰物质的试验, 所得数据均为 3 次试验平均值, 结果见表 1, 发现当维生素 C 的浓度低于 0.225 g/L, 血红蛋白低于 6.25 g/L, 结合胆红素低于 0.036 g/L, 非结合胆红素低于 0.15 g/L 时, 其对 NEFA 测定值的干扰小于 10%。

3 讨论

体内游离脂肪酸的来源主要是脂肪组织在激素敏感的脂

肪酶作用下水解释放出 NEFA 和三酰甘油。释放的 NEFA 可以作为许多组织的能量来源,包括骨骼肌和肝细胞。在肝细胞中,NEFA 的命运取决于能量需要、激素平衡等,例如,NEFA 可以进入线粒体,通过 β 氧化产生乙酰辅酶 A,进入三羧酸循环产生能量,也可以重新生成三酰甘油并作为低密度脂蛋白(VLDL)运输出去或储存于肝细胞^[3]。

血清中的 NEFA 主要受脂肪代谢影响,同时也受糖代谢和内分泌影响。游离脂肪酸水平升高可见于一些病理状态如胰岛素抵抗/2 型糖尿病、肥胖、恶性疾病和代谢综合征,并会引发心血管疾病^[4-9]。另外,有报道称肾脏病患者的 NEFA 的水平也有显著上升^[10]。因此,NEFA 检测可以作为临床医学上内分泌疾病,肝脏疾病以及糖尿病等疾病的辅助诊断。

精确地测定血清中的 NEFA 具有重要意义,本文利用酶法对血清中的 NEFA 测定进行了尝试,发现该试剂在 NEFA 浓度为 0~2.4 mmol/L 的范围内具有良好线性关系,且该试剂具有较好的精密度,批内 CV 仅 0.49%,试剂的稳定性也较高,抗干扰能力强,可以快速、高效的测定血清中的 NEFA 含量,适合于医院等部门的批量检测操作。但同时也应该注意,由于脂质易降解成游离脂肪酸,因此要求血液采集后及时分离血清并立即检测,如不能立即检测须将样本放于-20℃保存。

参考文献

[1] 周新,梁纯子,宁乐平.游离脂肪酸与疾病的相关性研究进展[C].北京:中华医学会第八次全国检验医学学术会议暨中华医学会检验分会成立 30 周年庆典大会资料汇编,2009.

• 质控与标规 •

- [2] 郑振佳,赵先恩,迟炳海,等.花生油中游离脂肪酸的 HPLC-FLD 分析[J].分析试验室,2011,30(3):23-27.
- [3] Smith SR, Wilson PWF. Free fatty acids and atherosclerosis-guilty or innocent? [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2006, 91(7): 2506-2508.
- [4] Pilz S, Scharnagl H, Tiran B, et al. Free fatty acids are independently associated with all-cause and cardiovascular mortality in subjects with coronary artery disease[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2006, 91(7): 2542-2547.
- [5] Hufnagel B, Dworak M, Soufi M, et al. Unsaturated fatty acids isolated from human lipoproteins activate protein phosphatase type 2C β and induce apoptosis in endothelial cells[J]. Atherosclerosis, 2005, 180(2): 245-254.
- [6] 柯柳,余叶蓉,张玄娥,等.高游离脂肪酸血症对心肌结构与功能的影响及其机制[J].四川大学学报·医学版,2009,40(1):24-28.
- [7] 文重远,李庚山,刘永明,等.游离脂肪酸对 2 型糖尿病心肌能量底物代谢及心功能的影响[J].临床心血管病杂志,2005,21(7):393-395.
- [8] 陈华佳,胡婷.单纯性肥胖儿童胰岛素抵抗与游离脂肪酸的关系[J].新乡医学院学报,2008,25(3):250-252.
- [9] 倪世宁,刘倩琦,朱子阳,等.儿童单纯性肥胖与胰岛素抵抗综合征危险因素的关系[J].实用儿科临床杂志,2009,24(7):503-504.
- [10] 饶绍琴,邓君,杜琼,等.肾脏病患者的非酯化脂肪酸的研究[J].中国实验诊断学,2001,5(6):297-298.

(收稿日期:2013-06-10)

胆红素对胆固醇检测的干扰*

王忠,郭鸿雁,王颖,孔繁军,王蕊

(首都医科大学附属北京佑安医院临检中心,北京 100069)

摘要:目的 评价高浓度胆红素(TBIL)对检测总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)是否有干扰作用。**方法** 根据 CLSI EP7-A2 文件,利用胆红素标准品对 TC、HDL-C 和 LDL-C 进行干扰评价试验。**结果** 配对差异实验结果显示浓度 1 000 μ mol/L 的 TBIL 对 HDL-C 检测无干扰;对 TC 和 LDL-C 检测有负干扰。5 个浓度系列的剂量效应实验结果显示 TBIL 对 TC 和 LDL-C 检测可产生线性负干扰。**结论** 高浓度 TBIL 对 TC 和 LDL-C 检测有干扰作用,可能会干扰临床对肝病和冠心病的预后判断。

关键词:胆固醇; 总胆固醇; 高密度脂蛋白胆固醇; 低密度脂蛋白胆固醇; 胆红素; 干扰

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.22.052

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)22-3052-03

总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)是判断肝脏损害程度和预后的重要指标,同时也是对冠心病、动脉粥样硬化危险因素评价的重要指标^[1-4]。高胆红素血症是肝病患者的常见症状,而高胆红素(TBIL)对生化分析仪检测的某些项目易产生明显的干扰。本文旨在研究当患者出现高 TBIL 血症时,是否会干扰 TC、HDL-C、LDL-C 的检测,从而影响肝病、冠心病等的临床诊断。本研究通过严格应用美国临床实验室标准化委员会(CLSI)制定的评价方案 EP7-A2 文件中“干扰筛选”的实验方案进行干扰评价试验^[5],对高 TBIL 血症时干扰血清中 TC、HDL-C、LDL-C 检测的情况作出分析与评价。

1 资料与方法

1.1 仪器及试剂 Olympus AU5400 全自动生化分析仪。试剂:Bilirubin 标准物质,纯度 99%;TC 试剂盒(氧化酶法);HDL-C 试剂盒(消除法);LDL-C 试剂盒(消除法);胆红素试剂盒(重氮盐法)。

1.2 方法 TC、HDL-C、LDL-C 和胆红素在生化仪上的测定方法均为终点法。

1.2.2 黄疸干扰物的制备(胆红素储存液) 精称胆红素 60 mg,加入试管中,加入 4% NaOH 5 mL,不断混匀,当胆红素粉末即将完全溶解时,逐滴加入 4% NaOH 至完全溶解,制成胆红素饱和溶液。-20℃冷冻,待用。通过计算本实验用胆红

* 基金项目:佑安肝病艾滋病基金资助项目(BJYAH-2011-042)。