

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 463—2015

血清低密度脂蛋白胆固醇检测

Measurement of serum low density lipoprotein cholesterol

2015-06-23 发布

2015-12-31 实施

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准主要起草单位：武汉大学中南医院、北京医院老年医学研究所、北京医院。

本标准起草人：周新、郑芳、陈永梅、陈文祥、王抒、董军。

血清低密度脂蛋白胆固醇检测

1 范围

本标准规定了血清低密度脂蛋白胆固醇测定及其质量保证的基本原则。

本标准适用于实验室的血清低密度脂蛋白胆固醇测定,也供有关体外诊断厂商参照使用。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

分析系统 analytical system

适合对某检验项目在规定浓度范围内给出分析结果的一组按规定条件使用的仪器和装置,包括试剂和物品。

注 1: 对于临床生物化学检验,分析系统主要由按规定条件使用的仪器、试剂和校准物组成。

注 2: 其他标准(如 GB/T 22576—2008)中的类似概念为“检验程序”,但检验程序包括更广泛内容,对于本文件,分析系统相当于检验程序的分析部分。

注 3: 改写 ISO/IEC 导则 99:2007,定义 3.2。

2.2

验证 verification

提供客观证据,考虑任何测定不确定度,说明给定事物满足规定要求。

[ISO/IEC 导则 99:2007,定义 2.44]

注 1: 本标准主要是指分析系统的验证,即某分析系统在本实验室的性能是否与规定性能指标或厂商提供的性能指标一致。

注 2: 有关概念是“确认”(validation),即“规定要求”满足指定用途的验证,本标准的验证包含确认的含义。

2.3

低密度脂蛋白胆固醇 low density lipoprotein cholesterol; LDL-C

应用经典的分离和定义脂蛋白的超速离心法,按密度从低到高将脂蛋白分为乳糜微粒(CM)、极低密度脂蛋白(VLDL)、中间密度脂蛋白(IDL)、低密度脂蛋白(LDL)和高密度脂蛋白(HDL)等。血清 LDL 是指密度 1.019 kg/L~1.063 kg/L 的脂蛋白,以 LDL 中的胆固醇(LDL-C)物质的量浓度(mmol/L)表示。血清 LDL-C 浓度的传统单位是 mg/dL,mg/dL 换算为 mmol/L 的换算系数为 0.025 9(1 mmol/L=1 mg/dL×0.025 9)。

3 LDL-C 的生物学特性和临床意义

我国人群血清 LDL-C 第 5 百分位数和 95 百分位数分别约 1.5 mmol/L 和 4.3 mmol/L。LDL-C 个体内生物学变异约 8%,个体间生物学变异约 26%。

LDL-C 主要用于动脉粥样硬化性心血管病危险分析。LDL-C 升高是心血管病危险因素。国内外成人血脂异常防治指南都以降 LDL-C 作为心血管病患者降脂治疗的第一目标。划分 LDL-C 采用固定切点,LDL-C < 3.37 mmol/L 为合适水平,LDL-C 3.37 mmol/L~4.12 mmol/L 为边缘升高,LDL-C ≥ 4.14 mmol/L 为升高。

4 分析原理

4.1 概述

LDL-C 分析原理有多种,包括超速离心法、电泳法、色谱法,匀相法(直接法)、沉淀法、间接法(Friedewald 公式计算法)等。LDL-C 常规检验目前主要采用匀相法和间接法。

注 1: 我国 LDL-C 常规检验目前推荐采用匀相法。

注 2: 本文件针对匀相法等实验方法,间接法适用范围见 4.3。

4.2 匀相法

匀相法又称直接法,有多种方法,常见的有选择性遮蔽法、清除法等。选择性遮蔽法采用硫酸 α -环糊精和镁离子等遮蔽 CM 和 VLDL,用聚氧乙烯-聚氧丙烯多聚醚遮蔽 HDL,胆固醇酶试剂只作用于 LDL-C 产生显色物质。清除法先用一种表面活性剂使胆固醇酶试剂只作用于 CM、VLDL、HDL 的胆固醇,但不显色,随后用另一种表面活性剂使胆固醇酶试剂作用于 LDL-C 产生显色物质而被检测。

4.3 间接法

间接法又称为 Friedewald 公式计算法,Friedewald 公式以 VLDL 组成恒定[VLDL 的胆固醇(VLDL-C)除以甘油三酯(TG)=0.2]的假设为前提,计算公式为:LDL-C=总胆固醇(TC)-高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)-TG/5(TG/5 为按 mg/dL 计,以 mmol/L 计则为 TG/2.2)。应用 Friedewald 公式计算法的条件是:

- a) 空腹血清不含乳糜微粒;
- b) TG 浓度在 4.52 mmol/L 以下;
- c) 无 III 型高脂血症。

Friedewald 公式计算法在 TG 低于 250 mg/dL(2.82 mmol/L)的情况下有一定的可靠性,但 TG 高于 250 mg/dL(2.82 mmol/L)时可靠性下降,TG 高于 400 mg/dL(4.52 mmol/L)时失去可靠性。此外由于 CM 含 TG 的比例较 VLDL 高,所以 CM 的存在也会造成 LDL-C 的测定偏差。此法最大的优点是低成本、简便,但不能用于 TG>400 mg/dL(4.52 mmol/L)或某些异常脂蛋白血症的标本。显然,用此公式计算 LDL-C 的可靠性受 TC、TG、HDL-C 三项指标测定质量的影响。

5 样品采集与处理

5.1 采用血清进行 LDL-C 分析。

5.2 患者准备和血液样品采集应满足以下要求:

- a) 患者在采集样品前应处于稳定代谢状态;
- b) 患者在采集样品前至少 2 周内保持通常饮食习惯,保持体重稳定;
- c) 患者在采集样品前 24 h 内不进行剧烈体育运动;
- d) 患者在采集样品前禁食约 12 h;
- e) 患者在采集样品前坐位休息至少 5 min;
- f) 静脉穿刺过程中止血带使用不超过 1 min。

5.3 样品处理与存放应满足以下要求:

- a) 血液样品保持密封,样品管处垂直状态,封口朝上;
- b) 血液样品管轻取轻放,避免剧烈震荡,防止引起溶血;
- c) 血液样品在采血后 1 h~2 h 内离心,分离血清,含促凝剂采血管可在更短时间内离心(参照采

血管说明书)；

- d) 分离的血清样品在分析前保持密封；
- e) 血清在室温下的存放时间不大于 4 h, 若需贮存 4 h~48 h, 应存于 4 °C 环境, 若需更长时间贮存, 应置于 -70 °C 以下环境; 血清不可反复冻融。

6 分析系统

6.1 分析系统选择

6.1.1 根据实验室实际情况选择适宜类型分析系统, 主要包括仪器、试剂和校准物, 若采用半自动仪器, 还包括适宜的移液设备和温育设备等。

注 1: 仪器主要分自动和半自动仪器, 目前多数实验室采用自动生化分析仪, 小型实验室可能采用半自动分析仪。

注 2: 可见下列类型分析系统:

- 封闭系统, 仪器、试剂和校准物来自同一厂商, 供配套使用, 见于部分使用自动分析仪的情况;
- 开放系统, 试剂和校准物来自同一厂商, 供配套使用, 仪器另选, 见于部分使用自动分析仪的情况和使用半自动分析仪的情况;
- 组合系统, 仪器、试剂和校准物来自不同厂商或机构, 由实验室自己组合, 见于部分使用自动和半自动分析仪的情况。

6.1.2 宜尽量选用封闭系统或开放系统, 必要时, 可使用组合系统。

注: 使用组合系统的理由, 可能是有证据表明配套校准物缺乏可靠性, 也可能是其他合理原因。

6.1.3 宜尽量选用分析结果可溯源至公认参考系统(参见附录 A)的分析系统。

注 1: 美国疾病控制预防中心(CDC)胆固醇参考方法实验室网络(CRMLN)运行 LDL-C 分析系统溯源认证计划, 该计划用多份(>40)患者血清将常规方法与参考测定程序或指定比对方法对比。CDC 在其网站保持有效期内的通过认证的分析系统列表。

注 2: 还可以有其他溯源方式, GB/T 21415—2008 对临床检验量值溯源原理及要求做出说明。

6.2 分析系统使用

封闭系统和开放系统, 应按厂商说明使用; 使用组合系统, 或对分析系统做其他改变(如各种分析参数、条件或方式等), 需有充足理由, 并需对分析系统性能进行充分验证(见 6.4)。

6.3 分析系统性能指标

分析系统应达到下列性能指标:

- a) 所测的分析物与 LDL-C 定义(见 2.3)一致, 一般情况下不受其他血清成分的明显干扰(特异性);
- b) 分析结果的总变异系数小于 4%(精密度);
- c) 分析结果的偏倚在 ±4% 范围内(正确度);
- d) 测定范围 1.2 mmol/L~9.0 mmol/L。

6.4 分析系统性能验证

任何新选用的分析系统, 在用于患者样品检验前, 应进行性能验证。可采用的验证程序参见附录 B。下列情况应验证 6.3 所列全部性能:

- a) 采用封闭系统或开放系统, 厂商未给出 6.3 所列之性能指标;
- b) 采用封闭系统或开放系统, 厂商给出的性能指标不满足 6.3 之要求;
- c) 采用组合系统或做过改变的分析系统;
- d) 采用封闭系统或开放系统, 厂商给出 6.3 所列之性能指标且符合要求时, 可仅验证正确度。

7 质量控制和保证

7.1 应根据工作经验、行业交流、科学文献等选用性能可靠的分析系统(主要是试剂和校准物品牌)。应尽量保持使用同种分析系统,不宜随意、经常更换分析系统。

7.2 应进行内部质量控制。质控品应适宜用于脂蛋白分析,足够均匀、稳定,浓度在医学决定水平附近,至少两个水平;应尽量长期保持使用同种质控品,不宜经常更换质控品;每批检验至少分析一次质控品。

注:有些商品生化质控品由于来源、组成、性质等原因,可能不适宜用作 LDL-C 质控品。自制、足量、 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下温度保存的新鲜冰冻血清是 LDL-C 的良好质控品。

7.3 应参加经卫生行政管理部门认定的室间质量评价机构组织的临床检验室间质量评价。

8 结果报告

应以我国法定计量单位 mmol/L 报告 LDL-C 测定结果,需要时,另外给出传统单位 mg/dL 结果。以 mmol/L 为单位的的结果保留小数点后 2 位有效数字。检验报告应注明医学决定水平,需要时,另外注明参考区间。LDL-C 升高的判断,需考虑分析变异、个体内生物学变异及检验次数等因素。

附 录 A
(资料性附录)
LDL-C 参考体系

A.1 参考方法

LDL-C 尚无国际公认的参考方法。国际影响较大的 LDL-C 参考方法是美国疾病控制与预防中心 (CDC) 的超速离心/肝素-锰沉淀/AK 胆固醇测定法 (β -定量法)。此法用 5 mL 血清在 1.006 kg/L 的密度下超速离心 [离心条件: 40 000 r/min (离心力 105 000g), 4 °C, 18.5 h], 切割中部离心管, 去除血清中密度小于 1.006 kg/L 的组分 (顶部组分, 主要为极低密度脂蛋白 VLDL 和乳糜微粒 CM), 将底部组分 (主要为 HDL 和 LDL, 简称 LHDL) 完全转移到 5 mL 容量瓶中, 定容。准确吸取 2 mL 底部组分到试管中, 用 80 μ L 肝素 (5 000 U/mL) 和 100 μ L 氯化锰 (1.0 mol/L) 选择性沉淀 LHDL 中的 LDL, 离心分离上清中的 HDL。用 CDC 的胆固醇参考方法 AK 法测定 LHDL 和 HDL 中的胆固醇 (LHDL-C 和 HDL-C), 自 LHDL-C 中减去 HDL-C 得 LDL-C。

A.2 参考物质

LDL-C 没有国际公认的参考物质。美国国家标准与技术研究所 (NIST) 的参考物质 1951b 有 LDL-C 的参考定值, 定值方法为美国 CDC 的 β -定量法。我国有国家质量监督检验检疫总局批准的 3 种冰冻人血清 LDL-C 国家一级标准物质 (GBW 09178, GBW 09179, GBW 09180)。

A.3 参考系统的应用方式及应用范围

参考系统的应用方式包括应用参考物质或应用参考测定程序。LDL-C 参考系统主要应用于以下方面:

- a) 分析系统的溯源和质量评价;
- b) 试剂的制备及质量评价;
- c) 校准物质的制备、定值及质量评价;
- d) 新常规方法的发展及评价;
- e) 室间质评计划中的靶值确定;
- f) 协作研究中血脂分析的质量保证。

附录 B

(资料性附录)

LDL-C 分析系统性能验证

B.1 特异性、精密度和测量范围评价

B.1.1 概述

采用分割样品对比评价特异性、精密度和测量范围,收集合适样品,用待验证分析系统和另一分析方法(对比方法)同时分析样品,比较分析结果。

B.1.2 样品

收集至少 10 份病人血清样品,浓度在测量范围内基本均匀分布,每份血清分装 3 份,形成 3 套样品,密封-70℃保存。

B.1.3 对比方法

首选参考方法或指定对比方法,不可行时,可选用另种常规方法,最好是不同原理的方法,且有证据证明是性能可靠的方法,如经 CRMLN 认证的方法。

B.1.4 实验过程

上述 3 套样品,分 3 次独立实验,用待验证方法和对比方法分析 LDL-C。

B.1.5 计算

B.1.5.1 计算每份病人样品待验证方法 3 次分析结果的变异系数(CV),计算所有病人血清结果的平均 CV。

B.1.5.2 计算每份病人样品两种方法 3 次分析结果的平均值,计算每份病人血清待验证方法结果的偏倚和绝对偏倚,计算所有病人血清结果的平均偏倚和平均绝对偏倚。

B.1.6 性能判断

若平均 CV 小于 4%,平均偏倚在±4%内,则分析系统精密度、特异性和测量范围符合要求。

B.2 正确度评价

B.2.1 若 B.1 实验中的对比方法为参考方法或指定对比方法,B.1.6 结果同时说明正确度符合要求。

B.2.2 若 B.1 实验中的对比方法是常规方法,用待验证方法分析有证参考物质或其他符合要求的参考物质至少 3 次,计算分析结果平均值与参考物质定值的差值(偏倚),若在±4%内,正确度符合要求。

参 考 文 献

- [1] WS/T 225—2002 临床化学检验血液标本的收集与处理
- [2] GB/T 22576—2008 医学实验室 质量和能力的专用要求
- [3] GB/T 21415—2008 体外诊断医疗器械生物样品中量的测量 校准品和控制物质赋值的计量学溯源性
- [4] Bachorik PS, Ross JW. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol: executive summary. *Clin Chem*, 1995, 41 (10): 1414-1420
- [5] National Cholesterol Education Program Expert Panel. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*, 2001, 285: 2486-2497
- [6] 中华医学会检验分会血脂专家委员会. 关于临床血脂测定的建议. *中华检验医学杂志*, 2003, 26: 182-184
- [7] 《中国成人血脂异常防治指南》制订联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南. 1版. 北京: 人民卫生出版社, 2007年
- [8] 王抒, 陈文祥. 血脂和脂蛋白及载脂蛋白检测的标准化. *中华检验医学杂志*, 2006, 29: 574-576
- [9] Miller WG, Waymack PP, Anderson FP, et al. Performance of four homogeneous direct methods for LDL-cholesterol. *Clin Chem*, 2002, 48(3): 489-498
- [10] Nauck M, Warnick GR, Rifai N. Methods for measurement of LDL-cholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. *Clin Chem*, 2002, 48(2): 236-254
- [11] Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502
- [12] Rifai N, Warnick GR, McNamara JR, Belcher JD, Grinstead GF, Frantz ID, Jr. Measurement of low-density-lipoprotein cholesterol in serum: a status report. *Clin Chem* 1992; 38: 150-160
- [13] 董军, 国汉邦, 王抒, 等. 超速离心-高效液相色谱测定血清高密度脂蛋白和低密度脂蛋白胆固醇. *中华检验医学杂志*, 2006, 29(8): 742-746
- [14] Smith SJ, Cooper GR, Myers GL, Sampson EJ. Biological variability in concentrations of serum lipids: sources of variation among results from published studies and composite predicted values. *Clin Chem*. 1993 Jun; 39(6): 1012-22
- [15] Carmen R. Desirable Specifications for Total Error, Imprecision, and Bias, derived from intra-and inter-individual biologic variation [DB/OL]. Madison: Westgard QC, 1999 (2008) [2009-11-30] <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>.
- [16] 国汉邦, 李红霞, 赵海舰, 等. 低密度脂蛋白胆固醇测定匀相法试剂评价. *临床检验杂志*. 2009, 27(6): 427-430
- [17] 李红霞, 国汉邦, 周伟燕, 等. 血清高、低密度脂蛋白胆固醇标准物质的研究. *现代检验医学杂志*. 2011, 26(4): 10-13