

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 362—2011

血清胆固醇参考测量程序 分光光度法

Reference measurement procedure for serum cholesterol—
Spectrophotometry

2011-12-14 发布

2012-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。
本标准由卫生部临床检验标准专业委员会提出。
本标准起草单位：卫生部北京老年医学研究所。
本标准起草人：董军、陈文祥、王抒。

血清胆固醇参考测量程序

分光光度法

1 范围

本标准规定了血清胆固醇参考测量程序(分光光度法)及其质量保证的基本原则。
本标准适用于从事血脂研究的实验室或血脂参考实验室测定胆固醇。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

参考物质 reference material

一种或多种特性值足够均匀且已被确定的材料或物质,用于分析测定系统校准、测定方法评价或为其他材料或物质赋值。

2.2

有证参考物质 certified reference material, CRM

附有证书的参考物质,其一种或多种特性值由已被检定,检定程序可溯源至准确复现的表示这些特性值的测定单位,检定的每一种特性值都附有给定置信水平的不确定度。

2.3

参考测量程序 reference measurement procedure

经过充分研究的测定程序,其测定值的不确定度适合其预期用途,尤其在评价测定相同量的其他测定方法的正确性和鉴定参考物质/方面的用途。

2.4

参考实验室 reference measurement laboratory

运行参考测量程序并提供有一定不确定度的测定结果的实验室。

2.5

测定不确定度 uncertainty of measurement

表征合理地赋予被测定之值的分散性,与测定结果相联系的参数。

注1:此参数可以是标准差或其倍数,或具有规定置信水平的区间的半宽度。

注2:测定不确定度由多个分量组成。其中一些分量可以用系列测定结果的统计分布估计,并用实验标准差表征。

另一些分量则可用基于经验或其他信息的假定概率分布估算,也可用标准差表征。

注3:测定结果应理解为被测定之值的最佳估计,而所有的不确定度分量均对分散性有贡献,包括由系统效应引起的(如,与修正值和参考测定标准有关的)分量。

3 方法原理

以氢氧化钾水解胆固醇酯,正己烷提取胆固醇、挥发溶剂,加入以醋酸酐、浓硫酸、冰醋酸按一定的比例混合而成的显色剂,分光光度计比色。根据胆固醇标准溶液的浓度和吸光度值计算样本的胆固醇浓度。

4 试剂和材料

4.1 试剂要求

使用 AK 法作为参考测量程序测定胆固醇时,适用的试剂种类和要求为:纯胆固醇的有证参考物质(99.8%±0.1%)、氢氧化钾(优级纯)、浓硫酸(优级纯)、无水乙醇(分析纯)、正己烷(色谱纯)、冰乙酸(分析纯)、乙酸酐(分析纯)及试剂级纯水。

4.2 警告和安全注意事项

方法中需使用酸、碱和有毒化学试剂。这些试剂应按有关规定分类存放管理。应在通风柜中使用并远离热源,使用时注意防护并尽可能采取措施减少外溢。如不慎被上述试剂累及应立即冲洗,需要时请及时就医。

4.3 试剂配制

4.3.1 氢氧化钾水溶液, 5.9 mol/L(0.33 kg/L)

氢氧化钾(固体)常含水 10%~15%,根据瓶上标签所指明的数字,计算出相当于 165 g 无水氢氧化钾的量,迅速称量,溶于 400 mL 水中,冷却后稀释至 500 mL,混合均匀,贮存在抗化学腐蚀的聚四氟乙烯或聚乙烯瓶中,螺旋盖也用同样材料制作。每月新鲜配制。瓶底会有碳酸钾沉淀,吸取时勿搅动。

4.3.2 氢氧化钾乙醇溶液,约 0.35 mol/L

此试剂易变色,应在临用前配制。以每只测定管、标准管及空白管各 2.5 mL 计,计算出需要量。如配制 100 mL 则用 10 mL 刻度吸管吸取 5.9 mol/L 氢氧化钾水溶液 6.0 mL±0.1 mL,放入 100 mL 量筒中,以无水乙醇稀释至刻度,混匀,倒入具塞锥形瓶中备用。

4.3.3 显色剂

醋酸酐(V_1)、浓硫酸(V_2)、冰醋酸(V_3)按 $V_1+V_2+V_3=20+1+10$ 的比例混合。应在冷水浴或冰浴中仔细缓慢混合至均匀。用前放入 25 °C 水浴中平衡。

注 1: 该显色剂稳定性差,在应用的当天根据需要量配制。要有足够量作冲洗加液器用。应在通风橱内隔着防护板、戴橡胶手套操作。

注 2: 配好的显色剂应无色,以水调“0”时显色剂的吸光度应不超过 0.003。如有色则须重配或更换三种试剂并增加冷却时间。

4.4 纯胆固醇参考物质配制标准溶液

4.4.1 标准溶液配置前准备工作如下:

——胆固醇干燥:胆固醇纯度标准物质放入玻璃小烧杯或平皿中,烤箱 40 °C~50 °C 减压干燥 8 h~10 h;

——玻璃器具准备:

- 容量瓶:100 mL 至少 10 个,50 mL 1 个;
- 移液管(奥氏吸管):20 mL 4 支、10 mL 7 支、5 mL 2 支;

——无水乙醇提前 1 d 放置实验台保持室温;

——控制室温在 25 °C 左右。

4.4.2 标准溶液配制按如下操作:

- 称量、溶解和定容:在万分之一天平上精确称取约 1.000 0 g 干燥的胆固醇参考物质,小心并完全转移到放置在 100 mL 容量瓶上的一小玻璃漏斗中,用室温无水乙醇仔细冲洗、溶解玻璃小漏斗上的胆固醇至容量瓶中,轻轻摇动容量瓶至胆固醇完全溶解,定容到 100 mL,充分混合。若称取的胆固醇为 1.000 0 g,则此胆固醇溶液的浓度为 25.86 mmol/L(1 000.0 mg/dL);
- 配制不同浓度胆固醇标准溶液:见表 1。用奥氏吸管准确吸取相应浓度的胆固醇溶液至不同容量瓶,加无水乙醇至刻度,充分混匀;

表 1 胆固醇标准溶液配制

原胆固醇溶液浓度 mmol/L(mg/dL)	用奥氏吸管吸取量 mL	容量瓶 mL	稀释后胆固醇溶液终浓度 mmol/L(mg/dL)
25.86(1 000)	20	50	10.34(400)
25.86(1 000)	30	100	7.76(300)
25.86(1 000)	20	100	5.17(200)
25.86(1 000)	10	100	2.59(100)
25.86(1 000)	5	100	1.29(50)
2.59(100)	25	100	0.65(25)
10.34(400)	10	100	1.03(40)
5.17(200)	10	100	0.52(20)
2.59(100)	10	100	0.26(10)
1.29(50)	10	100	0.13(5)

- 储存和使用:分装各标准溶液至 1 mL 安瓿,封口、贴标识,4 °C 保存 2 年。使用时从冰箱冷藏室中取出、平衡温度至少 1 h,其间混合均匀,每次打开用完后弃之;
- 新旧标准溶液的替换:新配制的标准溶液在使用前应与以前使用的标准溶液进行 3 次~5 次对比,即用本方法同时测定两种标准溶液和不同浓度的质控血清,以两种标准溶液分别作标准曲线、计算质控血清胆固醇浓度,两者偏差应小于 0.5%。达到此要求即可再完成新旧标准溶液的替换。

4.5 质控血清

制备胆固醇水平高、低不同的个体或混合新鲜血清,1 mL/支分装、密封、-20 °C 以下冷冻保存。每一批样本测定时均包括这两种血清。每批质控血清要有足够量,-20 °C 以下冷冻保存可至少使用 16 年。不可反复冻融。

5 仪器设备

5.1 通用分光光度计

在波长 620 nm 处满足以下要求:波段宽度 ≤ 10 nm。波长设置的准确度 ± 2 nm。吸光度读数(A)的精密度(同一溶液吸光度读数的重复性)在 1.0 时为 ± 0.001 。以不同浓度的硫酸钴铵溶液作线性试验时,光度线性应为通过“0”点的直线,以每一读数计算出的斜率必须在平均斜率的 1%以内(以不同浓度的硫酸钴铵溶液作线性试验)。光度测定的准确度 $\pm 3\%$ (吸光度读数与参考的校准标准吸光度读数

的一致性)。杂散光 $\leq 0.5\%$ 。要求有固定位置的流动比色杯,比色杯及其附属部件不会被显色剂腐蚀。

5.2 采样及移液系统

样本及标准液的吸取与转移的精密度应不超过 0.3% 。对于容积精度要求不高的试剂(如 5 mL 水、 5 mL 氢氧化钾乙醇液)可用移液管、滴定管、加液器等。对于用量应准确的试剂(如正己烷、显色剂)须用A级移液吸管或移液器,要求精密度 $\leq 0.3\%$ 。有条件时可用装备不锈钢泵的自动移液-稀释器转移样本及试剂,所用自动的或手工的加样器须专用。例如用稀释器:

- a) 吸取样本或标准液和加氢氧化钾乙醇液(要求稀释器接触试剂的部分可耐受化学腐蚀);稀释器;
- b) 加正己烷;稀释器;
- c) 吸取上层正己烷提取液;稀释器;
- d) 加显色剂(稀释器接触试剂的部分可耐受化学腐蚀)。

5.3 试管及试管架

用于水解和抽提胆固醇的 $15\text{ mL}\sim 20\text{ mL}$ 的具塞(聚四氟乙烯)试管、适当体积的用于蒸干正己烷上层液并加LB显色液的试管及可摆放40个 ~ 60 个试管的试管架。试管和试管架皆可耐受化学腐蚀。

5.4 振荡与混合设备

5.4.1 旋涡式混合器

用于水解步骤和加显色剂的混合。样本数少时也可用混合正己烷抽提液,旋涡混合3次,每次 5 s 。

5.4.2 机械振荡器

用于正己抽提皂化样本中的胆固醇。负荷 $\geq 3.0\text{ kg}$ 、振幅 3.5 cm 、速度 $250\text{ 次}/\text{min}$ 的往复式振荡器,可剧烈、彻底振荡整个试管架上的大批样本。如果正己烷能最大限度地抽提出皂化液中的胆固醇,同一样本在不同批次提取时测定的胆固醇浓度之差应 $< 0.5\%$ 。

5.4.3 样本混合器

可以温和地混合冰冻血清样本、质控血清和标准液。

5.5 蒸发设备

可加温并接有真空泵的干燥箱,用于干燥胆固醇结晶(原始标准)及正己烷抽提液,后者也可以放在 $35\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴上用氮气流吹干。

5.6 水浴

水解用 $50\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、可以放两个试管架的恒温水浴。另一个用于显色的水浴是 $25\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

5.7 冰箱

有 $4\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冷藏室及 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下温度冷冻室的冰箱,用于贮存分析样本和标准溶液。

5.8 天平

万分之一天平(0.0001 g)。

5.9 温度计

用于监控实验室、水浴、真空干燥箱的温度。

5.10 定时器

用于时间记录和控制。

5.11 安全贮存柜

用于存放有机溶剂和其他化学试剂。

5.12 通风装置

实验台应接有通风管道,以排出挥发的有机溶剂和酸性显色液。

5.13 环境温度控制

实验室配备中央空调满足环境温度要求。一旦室温超出 15℃~30℃ 范围应停止测定工作。

5.14 紧急冲淋系统

实验室备有紧急冲淋系统便于在上述化学试剂累及时可立即冲洗。

5.15 玻璃容器和吸管

用于配制、转移和存放标准溶液及试剂,包括 A 级容量瓶、A 级移液管、玻璃试管、量筒、烧杯、试剂瓶、刻度吸管、玻璃安瓿等。

注 1: 天平、温度计应定期由计量部门校准并出具校准报告。

注 2: 仪器日常维护、维修及使用应有文字记录备案。

6 样本

6.1 受试者准备

在血脂分析前受试者应做如下准备:处于稳定代谢状态,近期内无急性病、外伤、手术等异常情况,至少 2 周内保持一般饮食习惯和稳定体重;取血前 24 h 不饮酒、不进行剧烈体育运动;除卧床患者外,抽血前受试者至少应坐位休息 5 min;禁食或非禁食、血清或血浆样本均适用于胆固醇和高、低密度脂蛋白胆固醇测定。

注:制备用于胆固醇测定的血浆可以乙二胺四乙酸二钠作抗凝剂,血液中抗凝剂浓度为 1 g/L 时血浆胆固醇浓度比血清低约 3%。

6.2 警告

所有血样本应考虑其潜在生物传染性,请注意防护并尽可能减少污染。如不慎沾染应立即冲洗和消毒。与血样本有关的所有废物应放入黄色“焚烧垃圾袋”统一作无害化处理。

6.3 取血方法

取前臂静脉血。静脉穿刺过程中止血带使用不应超过 1 min,避免溶血。

6.4 血液样品的处理、贮存和测定前准备

6.4.1 血清的制备、分离和贮存

血液样品采取后室温下静置 30 min~45 min 使血液凝固,避免溶血。1 500 r/min~3 000 r/min (离心力 1 100g~1 300g)离心 10 min 后即时吸出血清,置试管中密闭贮存。

用于 AK 法测定胆固醇的血清样本应不少于 2.0 mL(可平均分成两管),分装于密封小管中立即测定或快速冷冻保存(-70 °C 或更低)直到完成所有的分析。

注 1: 血清保存管不能有破损、渗漏、挥发,不能装满过满。

注 2: 运输过程中使用干冰以使血清样本保持足够的低温冰冻状态。

6.4.2 分析前样本准备

分析前将血清样本取出、平衡温度至室温、充分混合。可用慢速混合器或手工混合,不能使用旋涡混合器。每支样本只用一次,与血样本有关的废弃物需作无害化处理。

7 测定步骤(见附录 B)

7.1 测定系统和样本的准备

7.1.1 仪器设备的准备

准备好各项用具,打开分光光度计、波长调到 620 nm,准备好 25 °C 水浴、计时器,将空试管架放入,显色剂预温至 25 °C。

7.1.2 样本准备

取胆固醇标准溶液浓度为 1.29 mmol/L、2.59 mmol/L、5.17 mmol/L、7.76 mmol/L、10.34 mmol/L (50 mg/dL、100 mg/dL、200 mg/dL、300 mg/dL、400 mg/dL)各 1 支~2 支;中和低值质控血清各 1 支~2 支;待分析样本 1 支~2 支(每支不少于 0.5 mL)。在室温平衡温度 1 h 以上并充分混合。

7.1.3 样本制备

取样、胆固醇酯水解和胆固醇抽提过程如下:

——分别取样本、质控、标准及空白各 0.25 mL 加入清洁有盖(聚四氟乙烯)试管中,可取样 2 个~3 个。可顺序吸取也可将标准和质控管穿插在样本管之间。各管加入 2.5 mL 新鲜配制的氢氧化钾乙醇液,尽量使血清或血浆分散,用自动取样稀释器时两步可以合并;

——放入 50 °C±2 °C 水浴,1 h,使胆固醇酯及其他可皂化物水解。水解后加入 2.5 mL 去离子水,在 25 °C 水浴中放置约 15 min;

——从水浴中取出,准确加入 5.0 mL 正己烷(已平衡至室温),加盖颠倒之,如有漏水者弃去。旋涡混合器混合 5 s,重复 3 次,在每次混合之间至少放置 1 min,或用机械震荡至少 15 min;

——准确吸取上层己烷液 2 mL 至另一组洁净干试管中;

——将正己烷液挥发至干,可以在 35 °C~40 °C 水浴上吹氮气流使干,或在 55 °C 真空烘箱中约 45 min~60 min。颜色反应即在此管内进行。如果不在当天完成显色,可存放在装有硅胶干燥剂的密闭容器内贮存一周。

注 1: AK 法取样量由原来的 0.5 mL 减小为 0.25 mL,目的是为了适用于小样本量高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇参考测量程序中的胆固醇测定。

注 2: 抽提效果因仪器而异。当试用一种混合器时先要经过试验以确定能达到完全抽提的时间。

7.1.4 显色及比色测定

显色及比色测定按如下操作：

- 空白：先将分光光度计用水调“0”点，吸干比色杯，将废液瓶倒空，用显色剂冲洗比色杯数次，然后读显色剂吸光度，应不超过 0.003，然后以显色剂调整“0”点；
- 测定顺序：按一定时间次序加试剂及比色，程序是先计时，加 1.6 mL 显色剂至第一管中，加试管盖，旋涡式混合器混合数秒钟溶解残渣，放入 25 °C 水浴内试管架第一位置上，20 s(或其他方便的时间)后加 1.6 mL 显色剂于第二管，同第一管操作，依次进行。每一管在水浴中的时间是 30 min 整。各管依次在保温 30 min 后比色读取吸光度，间隔时间 20 s(或其他规定)。测定完成后将比色杯吸干，用水冲洗比色杯至少 10 次。

7.1.5 数据处理

在分析范围内 1.29 mmol/L~12.93 mmol/L(50 mg/dL~500 mg/dL)各标准溶液管吸光度与胆固醇浓度成正比，以标准溶液的浓度与吸光度值作标准曲线，计算血清样本胆固醇浓度。可将重复取样管的测定结果的均值作为最终结果。

7.1.6 浓度表示及换算

以 mmol/L 或 mg/dL 表示，浓度 mg/dL 乘以 0.025 86 即换算为 mmol/L 浓度。以 mmol/L 为单位时，结果保留小数点后 2 位有效数字。

8 测定不确定度的评估

分析全过程为称取胆固醇参考物质，置适当体积的容量瓶中溶解，制备标准溶液母液，稀释母液制备工作标准溶液，准确吸取等体积标准溶液和血清样品，经皂化、抽提、显色后，分光光度计比色。胆固醇的含量与吸光度成正比，根据胆固醇标准溶液的浓度和吸光度值计算样本的胆固醇浓度。

胆固醇测定的不确定度主要包括来源于测定结果重复性的 A 类不确定度和 B 类不确定度。B 类不确定度主要来源于重量法配制标准溶液的过程和参考物质的纯度等。B 类不确定度主要来源于容量法配制标准溶液、参考物质的纯度的不确定度、标准曲线的不确定度、取样的不确定度、样品制备过程的不确定度、分光光度计比色的不确定度以及与决定性方法的偏差带来的不确定度。

根据以上分析，计算各不确定度分量，合成测定不确定度。

9 质量保证

为持续保持参考测定结果的准确性，应结合室内和室外质量控制计划对参考测定过程及结果进行监控、验证。质控方法包括：每次实验都使用实验室内部质控样本、参加国内外参考实验室间比对、定期使用有证参考物质进行验证、对不同时间测得的样本结果进行比较等。所有上述质量控制活动均应仔细、准确地予以记载，必要时应记录实验时的相关背景资料。

10 结果报告

应以报告或证书的方式签发参考测定结果。报告或证书应至少包括下列内容：文件题目、签发机构的名称和地址(适用时，认可机构)、接收物质的类型和来源、物质的唯一性标识和序列号、测定的样品数

目、客户的姓名和地址、订单号、报告或证书的页数、报告或签证日期、使用的测定程序、各单次测量结果、报告的参考测定值、报告值或定值的溯源性说明、测量不确定度、报告或证书的有效地理区域(国家的、地区的)说明。此文件应只能由参考测量实验室授权人员和负责人或其代理人签署。

附录 A

(资料性附录)

AK 法测定胆固醇的适用性和可靠性说明

A.1 分析方法的特异性和适用性

AK 法包括碱水解胆固醇酯、石油醚提取及醋酸-醋酸酐-硫酸显色等步骤,其法特异性高的关键在于操作中有皂化、正己烷抽提及溶剂挥发等步骤,起到充分提纯与浓缩胆固醇的作用。方法中使用的显色剂正确制备时血清中胆固醇测定范围可达 5 g/L。本法具有较高的特异性,但受血清中其他甾醇的干扰,测定结果比同位素稀释/气相色谱/质谱法(ID/MS 法)结果高约 1.6%。

AK 法可分析的样本包括冰冻或新鲜的血清或血浆样本(人或动物来源)、冰冻或冻干的质控血清(人或动物血清制备)、其他体液中的总胆固醇及各部分脂蛋白的胆固醇(如高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇)。

A.2 分析过程的合理性

A.2.1 加样

血清样本与胆固醇乙醇溶液均须准确加样 0.25 mL,两者基质(matrix)不同,加样要不受溶液性质的影响。自动采样稀释器可达到所需的精密度,并且快速,可适应较大的样本量。

A.2.2 去蛋白

乙醇用于双重目的,既作为迅速皂化的溶剂,也作为蛋白变性剂使脂蛋白中胆固醇释出。如果不用乙醇或类似的变性剂,非极性有机溶剂(如脂肪族碳、氢化合物)只能提取部分胆固醇及其他与蛋白结合的类型固醇。

A.2.3 皂化

皂化可在室温下迅速进行,但胆固醇酯水解比大多数脂肪酸酯慢,而需要增加碱性、温度或时间。胆固醇酯的完全水解是至关重要的,胆固醇酯与游离胆固醇以等分子数与显色剂起反应,但两者颜色生成及褪色速度不同。在本实验条件下保温 1 h 后,无胆固醇酯可以测出。

A.2.4 己烷抽提

乙醇水溶液与己烷之间的分溶分配可以使非极性类固醇(steroids)、固醇(sterols)与极性较高的类固醇激素及生物液体中的有机和无机组成分离开来,水相中的乙醇浓度为 40%~70%,正己烷可以从碱性乙醇液中定量地抽提 99.7%的胆固醇。稀释碱性水解液所用水的体积(2.5 mL)不需要十分准确,但加入的 5.0 mL 正己烷必须准确。通过充分的震荡抽提使两液相之间达到物理的完全平衡。

A.2.5 吸取抽提液

吸取正己烷抽提液相当于第二次取样。如果抽提过程中己烷没有损失与挥发,则每一管中都可回收得到 5.0 mL 正己烷,而不会损失在水相中。转移 2 mL 抽提液必须高度准确,否则会使最后结果有较大的误差。第二次取样后的挥发必须完全而无意外丢失,切不可因加温过高而溅失。

A. 2. 6 颜色反应

胆固醇与显色剂的反应机制已有解释(见 1974; Clin chem 20:794), 本标准所用显色剂在无水条件下对固醇类及一些类固醇的作用比较特异, 呈色的吸收峰宽, 初期产物的最大吸收波长为 620 nm, 提高温度可以明显加速反应, 硫酸浓度及少量水分也影响反应速度, 故试剂中硫酸用量要准确, 反应系统需无水。本法 25 °C 时的最高吸收坪在 28 min~30 min, 故比色应按顺序进行, 准确掌握规定的时间间隔。

A. 2. 7 标化

胆固醇标准溶液采用与样本相同的制备和测定过程, 目的是为了校正取样、抽提与试剂的偏差。仪器与呈色反应的不稳定可以引起“0”点漂移以及标准曲线斜率的变动。在本法分析范围内, 需要严格控制操作的准确性和重复性。

A. 3 准确度目标

本法与美国 CDC 参考测量程序(分光光度法)测定结果比较偏差不超过 1%。

A. 4 可靠性(短期与长期精密度)

胆固醇浓度为 100 mg/dL 时, 标准差 < 0.05 mmol/L (2 mg/dL), $CV \leq 2\%$; 胆固醇浓度 ≥ 5.17 mmol/L (200 mg/dL) 时, $CV \leq 1\%$ 。这一目标在用机械的移液装置时可达到, 需努力维持这种状态。

A. 5 检测限

显色剂制备恰当, 血清中胆固醇测定范围可达 12.93 mmol/L (500 mg/dL)。减少抽提液用量可以扩大测定范围。显色剂用量减半可使灵敏度提高一倍, 在用于测低浓度胆固醇(如高密度脂蛋白胆固醇)时不会牺牲可靠性或线性。

A. 6 实际使用情况

分析精密度与准确度要求及仪器设备的效能是以 CDC 脂类实验室人员的经验、美国临床化学会标准化委员会胆固醇研究组的建议等为根据的, 这些要求待将来有更多的数据时再修订。

A. 7 实验室间研究验证

本法的“可转移性”研究已由 CDC 组织 14 个合作单位进行, 结果在 1986 年发表。应用胆固醇含量为 3.44 mmol/L~9.28 mmol/L (133 mg/dL~359 mg/dL) 的混合血清时, 所得室内 $CV < 1.5\%$, 室间 $CV < 3.0\%$ 。

附录 B
(资料性附录)
AK 法测定胆固醇的流程图

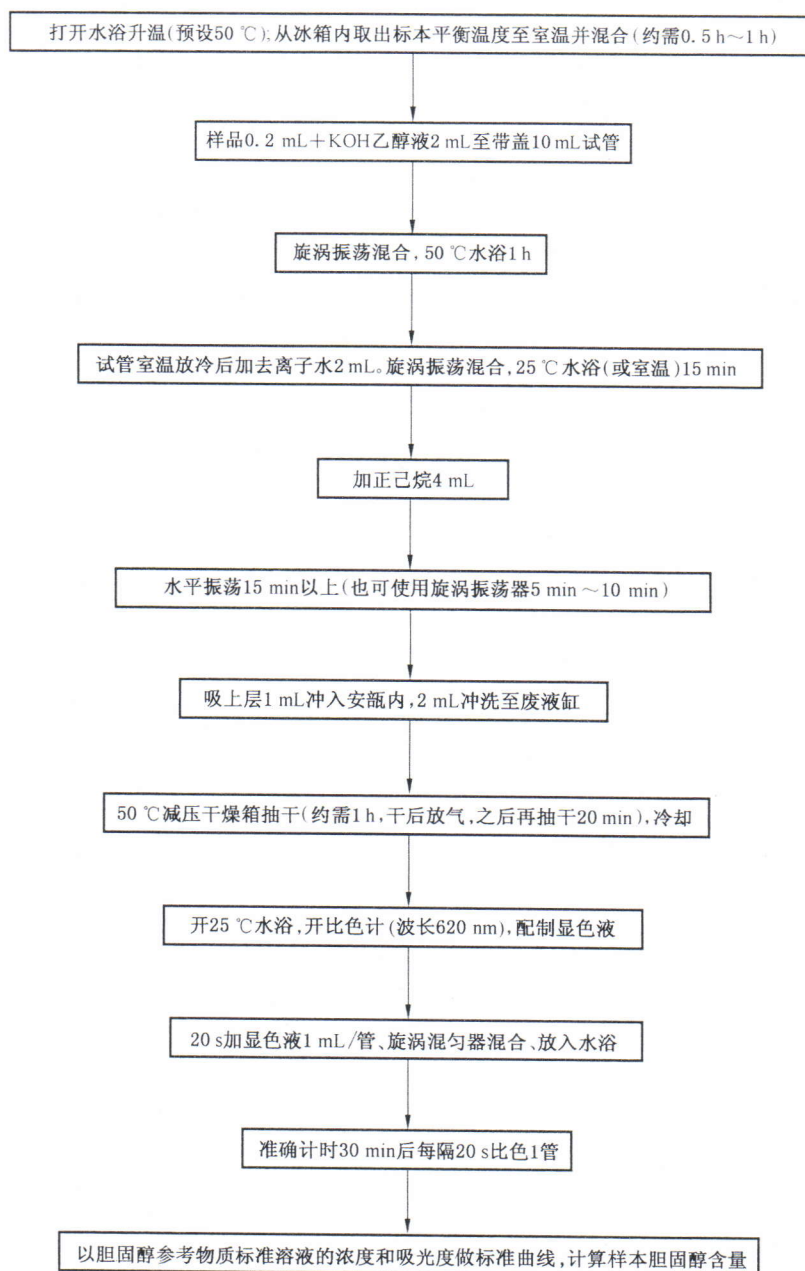


图 B. 1

参 考 文 献

- [1] Burke RW, Diamondstone BI, Velapoldi RA, and Menis O. Mechanisms of the Liebermann-Burchard and Zak Color Reactions for Cholesterol. *Clin. Chem.* 1974,20:794-801
- [2] Abell LL, Levy BB, Brodie RB, Kendall RB. Simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity. *J Biol Chem* 1952,195:357-366
- [3] Duncan IW, Mather A, Cooper GR. The procedure for the proposed cholesterol reference method. Atlanta, GA. Clin Chem Division. CDC. 1982
- [4] Cohen Hertz HS, Mandel J, et al. Total serum cholesterol by isotope dilution/mass spectrometry: A candidate definitive method. *Clin Chem* 1980,26:854-860
- [5] Cooper GR, Smith SJ, Duncan IW, et al. Interlaboratory testing of the transferability of a candidate reference method for total cholesterol in serum. *Clin Chem* 1986,32:921
- [6] 李建斋. 血清胆固醇测定的参考方法. *中华医学检验杂志*,1990,13(1)
-