



全国高等医药院校医学检验技术（医学检验）专业规划教材

临床生物化学检验 实验指导

（第3版）

主编 ◎ 涂建成 李艳



中国医药科技出版社

临床生物化学检验实验指导

(第3版)

主 编 涂建成 李 艳

主 审 郑铁生

副主编 沈财成 王太重 曾方银 马 洁

编 者 (以姓氏笔画为序)

马 洁 (江苏大学医学院)

王太重 (右江民族医学院)

王国庆 (北华大学医学检验学院)

毛达勇 (湖北医药学院)

宁兴旺 (湖南中医药大学第一附属医院)

吕 磊 (四川大家医学检测有限公司)

刘松梅 (武汉大学中南医院)

刘雪平 (天津医科大学)

李彦魁 (陕西中医药大学)

李 艳 (吉林医药学院)

邹炳德 (宁波美康盛德医学检验所)

沈财成 (温州医科大学)

张 萍 (哈尔滨医科大学大庆校区)

陈 强 (泰山医学院)

胡礼仪 (重庆医科大学附属永川医院)

徐瑞龙 (海尔施医学检验所)

涂建成 (武汉大学中南医院)

曾方银 (南方医科大学第五附属医院)

秘 书 刘松梅 (武汉大学中南医院)

中国医药科技出版社

内 容 提 要

本书是全国高等医药院校医学检验技术（医学检验）专业规划教材之一，全书共二十个实验，在介绍临床生化检验基本知识的基础上，着重介绍了临床生化常见的检测技术、仪器质量保证、质量控制、方法学评价、试剂盒性能评价及检测系统溯源与校准等实用技术。

本书供高等医药院校医学检验技术（医学检验）专业及相关专业本科、专科和成人教育（专升本）各层次学生用作教材，也可作为临床检验人员日常工作、继续教育和职称考试的参考书。

图书在版编目（CIP）数据

临床生物化学检验实验指导/涂建成，李艳主编.—3版.—北京：中国医药科技出版社，2015.8

全国高等医药院校医学检验技术（医学检验）专业规划教材

ISBN 978-7-5067-7595-3

I. ①临… II. ①涂… ②李… III. ①生物化学-医学检验-医学院校-教材 IV. ①R446.1

中国版本图书馆CIP数据核字（2015）第183648号

美术编辑 陈君杞

版式设计 郭小平

出版 中国医药科技出版社

地址 北京市海淀区文慧园北路甲22号

邮编 100082

电话 发行：010-62227427 邮购：010-62236938

网址 www.cmstp.com

规格 889×1194mm¹/₁₆

印张 9³/₄

字数 229千字

初版 2004年8月第1版

版次 2015年8月第3版

印次 2015年8月第1次印刷

印刷 三河市汇鑫印务有限公司

经销 全国各地新华书店

书号 ISBN 978-7-5067-7595-3

定价 22.00元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

全国高等医药院校医学检验技术（医学检验）专业规划教材

建设委员会

主任委员 丛玉隆（中国人民解放军总医院）

副主任委员（以汉语拼音为序）

樊绮诗（上海交通大学医学院）

胡丽华（华中科技大学同济医学院）

刘新光（广东医学院）

吕建新（温州医学院）

王 前（南方医科大学）

吴忠道（中山大学中山医学院）

姚 智（天津医科大学）

尹一兵（重庆医科大学）

委 员（以汉语拼音为序）

陈育民（河北工程大学医学院）

洪秀华（上海交通大学医学院）

胡建达（福建医科大学）

胡翊群（上海交通大学医学院）

李咏梅（北华大学医学部）

刘 辉（大连医科大学）

刘成玉（青岛大学医学院）

吕世静（广东医学院）

王 辉（新乡医学院）

徐克前（中南大学湘雅医学院）

姚群峰（湖北中医药大学）

张进顺（河北北方学院）

吴俊英（蚌埠医学院）

郑铁生（江苏大学医学院）

秘 书 长 匡罗均（中国医药科技出版社）

办 公 室 罗万杰（中国医药科技出版社）

尚亭华（中国医药科技出版社）

出版说明

全国高等医药院校医学检验专业规划教材,于20世纪90年代开始启动建设。是在教育部、原国家食品药品监督管理局的领导和指导下,在广泛调研和充分论证基础上,由中国医药科技出版社组织牵头江苏大学、温州医科大学、中山大学、华中科技大学同济医学院、中南大学湘雅医学院、广东医学院、上海交通大学医学院、青岛大学医学院、广西医科大学、南方医科大学、301医院等全国20多所医药院校和部分医疗单位的领导和专家成立教材建设委员会共同规划下,编写出版的一套供全国医学检验专业教学使用的本科规划教材。

本套教材坚持“紧扣医学检验专业本科教育培养目标,以临床实际需求为指导,强调培养目标与用人需求相结合”的原则,10余年来历经二轮编写修订,逐渐形成了一套行业特色鲜明、课程门类齐全、学科系统优化、内容衔接合理的高质量精品教材,深受广大师生的欢迎,为医学检验专业本科教育做出了积极贡献。

本套教材的第三轮修订,是在我国高等教育教学改革的新形势和医学检验专业更名为医学检验技术、学制由5年缩短至4年、学位授予由医学学士变为理学学士的新背景下,为更好地适应新要求,服务于各院校教学改革和新时期培养医学检验专门人才需求,在2010年出版的第二轮规划教材的基础上,由中国医药科技出版社于2014年组织全国40余所本科院校300余名教学经验丰富的专家教师不辞辛劳、精心编撰而成。

本轮教材含理论课程教材10门、实验课教材8门,供全国高等医药院校医学检验技术(医学检验)专业教学使用。具有以下特点:

1. 适应学制的转变 第三轮教材修订符合四年制医学检验技术专业教学的学制要求,为目前的教学提供更好的支撑。

2. 坚持“培养目标”与“用人需求”相结合 紧扣医学检验技术专业本科教育培养目标,以医学检验技术专业教育纲要为基础,以国家医学检验技术专业资格准入为指导,将先进的理论与行业实践结合起来,实现教育培养和临床实际需求相结合,做到教师好“教”、学生好“学”、学了好“用”,使学生能够成为临床工作需要的人才。

3. 充实完善内容,打造教材精品 专家们在上一轮教材基础上进一步优化、精炼和充实内容。坚持“三基、五性、三特定”,注重整套教材的系统科学性、学科的衔接性。进

一步精简教材字数，突出重点，强调理论与实际需求相结合，进一步提高教材质量。

编写出版本套高质量的全国高等医药院校医学检验技术（医学检验）专业规划教材，得到了相关专家的精心指导，以及全国各有关院校领导和编者的大力支持，在此一并表示衷心感谢。希望本套教材的出版，能受到全国本科医学检验技术（医学检验）专业广大师生的欢迎，对促进我国医学检验技术（医学检验）专业教育教学改革和人才培养做出积极贡献。希望广大师生在教学中积极使用本套教材，并提出宝贵意见，以便修订完善，共同打造精品教材。

全国高等医药院校医学检验技术（医学检验）专业规划教材建设委员会

中国医药科技出版社

2015年7月

前言

医学检验专业归口医学技术类后，要求在教学体系中强化检验技术元素。目前，临床生物化学检验已基本实施了试剂商品化和检测自动化，导致了一个普遍而奇怪的现象，即一旦出现技术问题，实验室技术人员不是自己分析解决，而是舍近求远地依赖供应商的技术支持，最终影响到服务的质量，值得引起关注。

本教材是按照高等医学检验技术专业的培养目标和临床生物化学检验课程的基本要求，精心组织编写而成，是配合理论开展实践性教学的指导教材，共 20 个实验。每项实验前设有“实验目的”和“实验背景”，实验后有“思考题”，以便学生了解实验的前因后果，拓展思维，训练学生未来处理异常实验报告的能力。书后附有 5 个附录，以便查用。

本教材具有以下几点创新与特色：①改革了以代谢物检测为系统的传统编写模式，采取以生化检验技术为系列的编写模式，技术全、实用性强。不仅节省了课时，而且提高了实验的效果。②实验内容在介绍基本知识的基础上，着重介绍了临床生化常见检测技术、仪器质量保证、质量控制、方法学评价、试剂盒性能评价及检测系统溯源与校准等实用技术，内容新、代表性好，符合岗位要求。③实验原理用化学反应结构式来表达，让学生知其然和所以然。④教材后续将逐步完善 PowerPoint 课件、微课视频、试题库和在线考评等网络教学资源，以形成立体化、网络化、开放式的共享效应，强化了增值服务。

本教材是在第 2 版基础上修订而成，主要供医学检验技术专业本科生和成人教育（专升本）用作教材，可供医学系本科生和研究生作为必修课或选修课教材，也可作为临床检验人员日常工作、继续教育和职称考试的参考用书。

本教材在编写思路、内容选择及编写过程中，得到了医学检验界许多专家、教授的指点和帮助，尤其是主审郑铁生教授的悉心指导和督促，凝聚了全体编委的心血和心愿。在编写过程中，刘松梅、黎四维、景伟等同志做了大量的汇总与整理工作，在此一并表示衷心的感谢。

由于检验医学发展快、技术涉及广，限于作者的水平和能力，本教材肯定有不足之处，敬请使用者提出批评和宝贵意见。

编者

2015 年 5 月

全国高等医药院校医学检验技术(医学检验)专业规划教材

第三轮修订教材目录

| 序号 | 书名 | 主编 | 单位 |
|----|-------------------|-----|-------------------|
| 1 | 临床生物化学检验(第3版) | 郑铁生 | 江苏大学医学院 |
| | | 鄢盛恺 | 北京大学中日友好临床医学院 |
| | 临床生物化学检验实验指导(第3版) | 涂建成 | 武汉大学中南医院 |
| 2 | 临床检验基础(第3版) | 李艳 | 吉林医药学院 |
| | | 刘成玉 | 青岛大学医学院 |
| | 临床检验基础实验指导(第2版) | 林发全 | 广西医科大学 |
| 3 | 临床微生物学检验(第3版) | 姜忠信 | 青岛大学医学院 |
| | | 王元松 | 青岛大学医学院 |
| | 临床微生物学检验实验指导(第2版) | 洪秀华 | 上海交通大学医学院 |
| 4 | 临床免疫学检验(第3版) | 刘文恩 | 中南大学湘雅医学院 |
| | | 吕世静 | 广东医学院 |
| | 临床免疫学检验实验指导(第3版) | 李会强 | 天津医科大学 |
| 5 | 临床血液学检验(第3版) | 曾常茜 | 大连大学医学院 |
| | | 胡翊群 | 上海交通大学医学院 |
| | 临床血液学检验实验指导(第2版) | 童向民 | 浙江省人民医院 |
| 6 | 临床寄生虫学检验(第3版) | 丁磊 | 上海交通大学医学院 |
| | | 王小中 | 南昌大学医学院 |
| | 临床寄生虫学检验实验指导(第2版) | 吴忠道 | 中山大学中山医学院 |
| 7 | 临床输血学检验(第3版) | 汪世平 | 中南大学湘雅医学院 |
| | | 夏超明 | 苏州大学基础医学与生物科学学院 |
| | 临床输血学检验实验指导(第2版) | 胡丽华 | 华中科技大学同济医学院附属协和医院 |
| 8 | 分子诊断学(第3版) | 胡丽华 | 华中科技大学同济医学院附属协和医院 |
| | | 李伟 | 温州医科大学 |
| | 分子诊断学实验指导(第2版) | 黄彬 | 中山大学中山医学院 |
| 9 | 临床实验室管理(第3版) | 金晶 | 温州医科大学 |
| | | 陈茶 | 广州中医药大学第二附属医院 |
| | | 王前 | 南方医科大学 |
| 10 | 临床检验仪器(第2版) | 邓新立 | 中国人民解放军总医院 |
| | | 邹雄 | 山东大学齐鲁医院 |
| | | 李莉 | 上海交通大学附属第一人民医院 |



目录

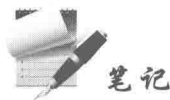
| | |
|------------------------------------|------|
| 总论 临床生物化学检验实验室基本知识 | (1) |
| 一、实验室安全知识 | (1) |
| 二、实验用水 | (2) |
| 三、实验试剂管理 | (5) |
| 四、常用实验器材的使用和维护 | (7) |
| 五、实验报告的书写 | (10) |
| 实验一 化学法测定血清蛋白质 | (12) |
| 一、双缩脲法测定血清总蛋白 | (12) |
| 二、溴甲酚绿法测定血清蛋白 | (14) |
| 实验二 化学法测定无机离子和微量元素 | (18) |
| 一、邻甲酚酞络合酮法测定血清总钙 | (18) |
| 二、还原钼蓝法测定血清磷 | (19) |
| 三、甲基麝香草酚蓝法测定血清镁 | (21) |
| 四、亚铁嗉显色法测定血清铁和总铁结合力 | (22) |
| 实验三 化学法测定胆红素 | (26) |
| 一、改良 J-G 法测定血清总胆红素与结合胆红素 | (26) |
| 二、钒酸氧化法测定血清总胆红素和结合胆红素 | (29) |
| 实验四 乙酰丙酮显色法测定血清三酰甘油 | (31) |
| 实验五 化学法测定血清肌酐 | (34) |
| 一、苦味酸连续监测法测定血清肌酐 | (34) |
| 二、去蛋白终点法测定血清肌酐 | (36) |
| 实验六 离子交换层析法测定糖化血红蛋白 | (38) |
| 实验七 免疫化学法测定生化代谢物 | (41) |
| 一、免疫透射比浊法测定血清载脂蛋白 A I 和 B100 | (41) |
| 二、免疫化学法测定 C 反应蛋白 | (43) |
| 实验八 电化学法测定生物物质 | (45) |
| 一、离子选择性电极法测定血清电解质 | (45) |



| | |
|---|--------------|
| 二、血液 pH 和气体分析 | (48) |
| 实验九 电泳法测定血清蛋白质和同工酶 | (51) |
| 一、醋酸纤维薄膜电泳测定血清蛋白 | (51) |
| 二、琼脂糖凝胶电泳法测定乳酸脱氢酶同工酶 | (54) |
| 实验十 连续监测法测定酶活性浓度 | (58) |
| 一、色素原底物反应的连续监测法测定 γ -谷氨酰基转移酶 | (58) |
| 二、过氧化物酶反应的连续监测法测定腺苷脱氨酶 | (60) |
| 实验十一 连续监测法与定时法比较测定 ALT 活性浓度 | (64) |
| 实验十二 脱氢酶指示系统测定生化物质 | (69) |
| 一、脱氢酶指示系统直接法测定血液乳酸 | (69) |
| 二、脱氢酶指示系统酶偶联法测定血清尿素 | (71) |
| 实验十三 过氧化物酶指示系统测定生化物质 | (73) |
| 一、酶偶联终点法测定血清 HDL 及其亚类胆固醇 | (73) |
| 二、肌氨酸氧化酶法测定血清肌酐 | (75) |
| 三、尿酸酶-过氧化物酶偶联法测定血清尿酸 | (78) |
| 实验十四 酶循环法测定生化物质 | (81) |
| 一、酶循环法测定血清总胆汁酸 | (81) |
| 二、酶循环法测定血清同型半胱氨酸 | (83) |
| 实验十五 酶激活和酶抑制法测定生化物质 | (87) |
| 一、碳酸酐酶激活法测定锌含量 | (87) |
| 二、乙酰胆碱酯酶抑制法测定有机磷 | (89) |
| 实验十六 临床生物化学检验仪器的质量保证 | (91) |
| 一、分光光度计的性能检查和调校 | (91) |
| 二、生化分析仪 K 值测定 | (93) |
| 实验十七 临床生物化学检验质量控制 | (97) |
| 一、室内质控图的绘制 | (97) |
| 二、室间质量评价 | (99) |
| 实验十八 临床生物化学检验方法学评价 | (102) |
| 一、重复性试验 | (102) |
| 二、回收试验 | (104) |
| 三、干扰试验 | (105) |
| 四、方法比较实验 | (107) |



| | |
|---|--------------|
| 五、检测限试验 | (109) |
| 六、Westgard 方法性能决定图绘制 | (111) |
| 实验十九 临床生物化学试剂盒性能评价 | (113) |
| 一、线性范围试验 | (113) |
| 二、临床可报告范围 | (116) |
| 三、时间反应曲线试验 | (118) |
| 四、稳定性实验 | (120) |
| 五、单双试剂对比评价 | (121) |
| 实验二十 生化检测系统的溯源与校准 | (125) |
| 一、生化分析自建检测系统的溯源 | (125) |
| 二、生化分析检测系统的校准 | (128) |
| 三、不同生化分析仪间的比对 | (130) |
| 四、生化检测系统分析性能的可接受性评价 | (133) |
| 附录 | (136) |
| 附录 1 药物对实验室检查结果的影响 | (136) |
| 附录 2 临床生物化学常规检验项目分析质量指标 | (138) |
| 附录 3 常用玻璃量器标称容量的允差标准 | (139) |
| 附录 4 Grubbs 检验临界值 $G_{\alpha, n}$ | (140) |
| 附录 5 确定比对样品重复性检测次数的临界值表 | (141) |



总论 临床生物化学检验实验室基本知识

临床生物化学检验是医学检验专业的一门主干课程，其临床实践活动主要是在实验室里进行。因此本章将首先介绍与之相关的实验室安全知识、常用实验器材的使用、实验用水质量要求、实验试剂的选择和实验技术原理与应用，以便学生熟悉基本的实验室工作规则，为后续章节的学习和实验奠定基础。

一、实验室安全知识

临床生物化学检验实验操作者经常直接或间接接触有毒性、腐蚀性、易燃易爆的化学药品和各种生物样品，使用到煤气、电等高温电热设备和易碎的玻璃器材和瓷质器皿，因此必须十分重视安全防范工作，以防造成环境污染和危害身体健康。实验室安全防护除了要遵循一般要求外，还要重视生物安全、化学安全和消防安全等。

（一）实验室安全的一般要求

在实验工作区：①禁止吸烟。②禁止放置食物、饮料及类似存在有潜在的从手到口的接触途径的其他物质，禁止用实验用冰箱储藏食物。③处理腐蚀性或毒性物质时，必须使用安全镜、面罩或其他的眼睛和面部防护用品。④应穿隔离服（白大衣），服装还应符合实验要求。⑤应穿着舒适、防滑，并能保护整个脚面的鞋。⑥头发不可下垂，避免与被污染物质接触或卷入机器。不可留长胡须。⑦由实验工作区进入非污染区要洗手，接触污染物时要立即洗手。⑧及时清理实验垃圾，保持实验台面的整洁和环境清洁。

（二）生物安全

实验室生物安全是描述那些用以防止发生病原体或毒素无意中暴露及意外释放的防护原则、技术以及实践。生物安全贯穿于实验的整个过程，从取样到所有潜在危险材料的被处理。生物安全的保护对象包括自己、同事、社区和环境。

临床生物化学检验实验涉及的生物安全等级多为一级，进行试验用的物质是已知的、所有特性都已清楚，操作人员经过基本的实验室知识培训和指导，才可在公开的实验台面上进行，不需要有特殊需求的安全保护措施。

临床生物化学检验常用的人体标本有血液、尿液、胸水、腹水和脑脊液等，这些来自临床的标本是潜在的生物传染源，在试验操作过程中应加以防范。采血用注射器、棉球等物品应放置在指定容器内，切勿随意丢弃。应使用指定的容器存放标本，严防污染，避免与身体接触。如不慎沾污皮肤、衣物或实验台面，应及时清洗和消毒。皮肤意外接触到血液、体液或其他化学物质时，应立即用肥皂和流动水冲洗。若皮肤有破损及伤口，应及时到急诊室就诊，请专科医生诊治。棉质工作服、衣物有明显污染时，可随时用有效氯 500mg/L 的消毒液，浸泡 30 ~ 60 min，然后冲洗干净。实验台面若被明显污染，用 1000 ~ 2000 mg/L 有效氯溶液撒于污染表面，并使消毒液浸过污染表面，保持 30 ~ 60 min，再擦除，拖把或抹布用后浸于上述消毒液内 1h。

实验完毕, 剩余的血标本以及使用过的一次性器材由专人负责, 按规定程序消毒和处理, 并以消毒液浸泡、流水冲洗双手。其他感染性废物和器材应放置在指定容器内, 按照生物安全实验室管理技术规范处置程序进行消毒、隔离、包装、转运和保存。

(三) 化学安全

临床生化检验实验过程中, 经常涉及许多化学试剂, 应特别注意以下几点: ①使用强酸、强碱时, 必须戴防护手套小心地操作, 防止溅出。量取这些试剂时, 若不慎溅在实验台上或地面, 必须及时用湿抹布擦洗干净。强碱(如氢氧化钠、氢氧化钾)触及皮肤而引起灼伤时, 要先用大量自来水冲洗, 再用2%或5%乙酸溶液涂洗。强酸、溴等触及皮肤而致灼伤时, 立即用大量自来水冲洗, 再以5%碳酸氢钠溶液或5%氢氧化铵溶液洗涤。酚类触及皮肤引起灼伤, 首先用大量的水清洗, 再用肥皂和水洗涤, 忌用乙醇。②使用可燃物, 特别是易燃物(如乙醚、丙酮、乙醇、苯、金属钠等)时, 应避免靠近火焰。低沸点的有机溶剂应避免直接在火上加热, 可在水浴中利用回流冷凝管加热或蒸馏。③实验产生的废液应倒入指定容器内, 尤其是强酸和强碱不能直接倒在水槽中, 应由专人负责处理。④有毒物品应按实验室的规定办理审批手续后领取, 使用时严格操作, 用后妥善处理。

(四) 消防安全

进入实验室开始实验前, 应了解煤气总阀门、水阀门及电闸所在处。离开实验室时, 一定要将室内检查一遍, 将水、电、煤气的开关关好。在实验室内: ①严禁吸烟, 严禁私人使用电炉取暖。②使用电器设备(如烘箱、恒温水浴、离心机、电炉等)时, 严防触电。绝不可用湿手或在眼睛旁视时开关电闸和电器开关。操作前用试电笔检查电器设备是否漏电, 凡是漏电的仪器, 一律不能使用。③对易燃易爆、有毒药品使用过程中严格执行操作规程, 注意安全, 做好防患措施, 防止意外事故的发生。使用电炉、酒精灯等要远离化学易燃物品。如果不慎倾出了相当量的易燃液体, 则应立即关闭室内所有的火源和电加热器, 开启窗户通风, 用毛巾或抹布擦拭洒出的液体, 并将液体拧到大的容器中, 然后再倒入带塞的玻璃瓶中。④易燃和易爆炸物质的残渣(如金属钠、白磷、火柴头)不得倒入污物桶或水槽中, 应收集在指定的容器内。

在实验过程中一旦发生了火灾应保持镇静。首先立即切断室内一切火源和电源, 然后根据具体情况正确地进行抢救和灭火。小范围起火时, 应立即用湿布扑灭明火, 并切断电源, 关闭可燃气体。易燃液体和固体着火时, 应根据燃烧物质的性质, 采用不同的灭火剂。范围较大的火情, 应用消防砂或干粉灭火器扑灭, 并应及时报警。

二、实验用水

水是常用的溶剂, 天然水中含有电解质、有机物、颗粒物、微生物和溶解气体等许多杂质, 经简单的物理、化学方法处理, 除去悬浮物质和部分无机盐即得到自来水。天然水和自来水经蒸馏、电渗析、离子交换等处理, 除去杂质, 即成实验用纯水。实验用水的质量直接影响所配试剂的质量和实验结果的准确性和精密度。

(一) 实验用水的制备方法

1. 蒸馏法 利用水与杂质的沸点不同, 将自来水(或天然水)在蒸馏器中加热汽化, 然后冷凝水蒸气即得蒸馏水。按蒸馏次数可分为一次、二次和多次蒸馏法。蒸馏水是实验室中常用的较为纯净的洗涤剂 and 溶剂, 可以满足普通分析实验室的用水要求。蒸馏法制水的优点是操作简单、成本低、效果好, 适用于用水量较小的实验室。但其耗能大, 冷却水消耗亦多, 同时



需注意管道的清洁。电阻率是衡量实验室用水导电性能的指标，随着水内无机离子的减少电阻加大则数值逐渐变大。蒸馏水在 25℃ 时其电阻率为 $1 \times 10^5 \Omega/\text{cm}$ 左右。

2. 离子交换法 当水流过装有离子交换树脂的交换器时，水中的杂质离子通过离子交换柱（内装阴、阳离子交换树脂）被除去的方法称离子交换法。

离子交换树脂是人工合成的带有交换活性基团的多孔网状结构的高分子化合物，在网状结构的骨架上，含有许多可与溶液中的离子起交换作用的“活性基团”。根据树脂可交换活性基团的不同，离子交换树脂被分为阳离子交换树脂和阴离子交换树脂两大类。当水通过阳离子交换树脂时，水中的 Na^+ 、 Ca^{2+} 等阳离子与树脂中的活性基团（ $-\text{H}^+$ ）发生交换；当水通过阴离子交换树脂时，水中的 Cl^- 、 SO_4^{2-} 等阴离子与树脂中的活性基团（ $-\text{OH}^-$ ）发生交换。所以离子交换法制备纯水时的过程是水中的杂质离子先通过扩散进入树脂颗粒内部，再与树脂的活性基团中的 H^+ 和 OH^- 发生交换的过程。

离子交换法主要有两种制备方式：①复床式，即按阳床-阴床-阳床-阴床-混合床的方式连接并产生去离子水，便于树脂再生。②混床式（2~5 级串联不等），去离子效果好，但再生不方便。

由于树脂是多孔网状结构，具有很强的吸附能力，可以同时除去电中性杂质，又因交换柱本身就是一个很好的过滤器，所以颗粒杂质可以一同除去。本法得到的去离子水纯度较高，25℃ 时电阻率达 $5 \times 10^6 \Omega/\text{cm}$ 以上。

3. 电渗析法 该法是将自来水通过电渗析器，在外加直流电场的作用下，利用阴、阳离子交换膜分别选择性地允许阴、阳离子透过，使一部分离子透过离子交换膜迁移到另一部分水中去，从而实现一部分水纯化的方法。电渗析器主要由离子交换膜、隔板、电极等组成。离子交换膜是整个电渗析器的关键部分，是由具有离子交换性能的高分子材料制成的薄膜。阳离子交换膜（阳膜）只允许阳离子通过，阴离子交换膜（阴膜）只允许阴离子通过。电渗析水的电阻率一般在 $10^4 \sim 10^5 \Omega/\text{cm}$ 。本法适用于处理含有离子杂质较多的水，如海水淡化。

4. 反渗透法 它是一种利用反渗透膜除去无机盐、有机物（分子量 < 500 ）、细菌、病毒等的技术，产出水的电阻率能较原水的电阻率升高近 10 倍。常用的反渗透膜有醋酸纤维素膜、聚酰胺膜和聚砜膜等，膜的孔径为 $0.0001 \sim 0.001 \mu\text{m}$ 。

5. 活性炭吸附法 活性炭吸附法是采用活性炭柱处理自来水，除去有机物的方法。活性炭是广谱吸附剂，可吸附气体成分、细菌和某些过渡金属等。该法作为各种制备纯水配套的一种措施。

6. 纯水器系统 目前多采用本法制备纯水，纯水器是有效地把纯化水技术的工作原理集中在一台纯水机上，其基本装置包括机械过滤、活性炭吸附、反渗透膜过滤、紫外线消解、离子交换单元和 $0.2 \sim 0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤。

（二）实验用水的储存方法

在实际工作中，应重视纯水的贮存、运输和使用过程，防止纯水等级下降。一般选用聚乙烯或聚丙烯桶（瓶）贮存，贮存时间不宜太长。使用时应避免一切可能的污染，切勿用手接触纯水或容器内壁。

（三）实验用水的质量要求和水质检测

1. 实验用纯水标准 1995 年国际标准化组织（International Organization for Standardization, ISO）制定了纯水标准，将纯水分为三个级别，见表 1。2008 年国家质量监督检验检疫总局批准实施的《分析实验室用水规格和试验方法》（GB/T6682-2008）主要参数见表 2。

表1 国际标准化组织纯水标准 (ISO 3696: 1995)

| 指标 | I 级 | II 级 | III 级 |
|-----------------------------------|-------|------|-----------|
| pH (25℃) | — | — | 5.0 ~ 7.5 |
| 最大电导率 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 25℃ | 0.1 | 1.0 | 5.0 |
| 蒸发残渣 (mg/kg) 110℃ \leq | — | 1.0 | 2.0 |
| 最大吸光度 (254 nm, 1cm 比色皿) | 0.001 | 0.01 | — |
| SiO ₂ 最大量 mg/L | 0.01 | 0.02 | — |
| 最大耗氧量 mg/L | — | 0.08 | 0.4 |

表2 分析实验室用水规格标准 (国家质量监督检验检疫总局 GB/T 6682—2008)

| 级别 | I 级 | II 级 | III 级 |
|---|-------|------|-----------|
| 外观 (目视观察) | 无色透明 | 无色透明 | 无色透明 |
| pH (25℃) | — | — | 5.0 ~ 7.5 |
| 电导率 (mS/m 25℃) \leq | 0.01 | 0.10 | 0.50 |
| 可溶性硅 [以 (SiO ₂) 计], (mg/L) \leq | 0.01 | 0.02 | — |
| 吸光度 (254nm, 1cm 光程) \leq | 0.001 | 0.01 | — |
| 可氧化物质 [以 (O) 计], mg/L \leq | — | 0.08 | 0.4 |
| 蒸发残渣 (105℃ \pm 2℃), (mg/L) \leq | — | 1.0 | 2.0 |

2. 实验用纯水的使用与用途 美国病理学家协会 (College of American Pathologists, CAP) 和美国临床实验室标准化委员会 (National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS) 规定的实验用纯水用途见表3。不同等级水在临床实验室的用途不一, 一般选用II级水, 特殊实验如酶活性测定、电解质分析等应选用I级水, III级水用于仪器、器皿的自来水清洁后冲洗。

表3 NCCLS、CAP 规定的等级纯水的用途

| 级别 | 用途 |
|-------|--|
| NCCLS | I 原子吸收、火焰光度、电解质、荧光、酶、高灵敏度层析、电泳、参比液、缓冲液 |
| | II 一般实验检验, 玻璃器皿冲洗 |
| | III 玻璃器皿洗涤, 要求不高的定性试验 |
| CAP | I 原子吸收、火焰光度、酶、血气及 pH、电解质、无机元素、缓冲液、参比液 |
| | II 一般实验室检验, 血液学、血清、微生物检验等 |
| | III 普通定性测定、尿液检验、组织切片、寄生虫、器皿洗涤 |

3. 水的纯度检查 水的纯度检查首先用电导率仪测定其电导率或电阻率, 然后可用特定试剂分别检测水中可溶性硅、Ca²⁺、Mg²⁺、Cl⁻、SO₄²⁻等成分的含量。

(1) 电阻率: 用电导仪或兆欧表测定。用电导仪测得电导率, 与电阻率可进行换算。电导是电阻的倒数, 单位为西门子 (s), 即 $1\text{s} = 1\Omega^{-1}$; 每 cm 长的电导为电导率 ($\text{s} \cdot \text{cm}^{-1}$)。电导仪表头读数单位为 $\mu\text{s} \cdot \text{cm}^{-1}$, $1\mu\text{s} \cdot \text{cm}^{-1} = 1 \times 10^{-6}\text{s} \cdot \text{cm}^{-1}$ 即当电导仪读数为 1 时, 其电阻率为 $1 \times 10^6 \Omega (1\text{M}\Omega) \text{cm}^{-1}$ 。

(2) 可溶性硅定性检验: 方法如下: 纯水 10ml 加入 1% 的钼酸溶液 15 滴, 草酸硫酸混合液 (4% 草酸 1 份加 4mol/L H₂SO₄ 3 份) 8 滴, 摇匀, 置室温 10min, 滴加 1% 硫酸亚铁溶液 5 滴摇匀, 以不显蓝色为合格 ($\leq 0.05\text{mg/L}$)。



三、实验试剂管理

临床生物化学检验实验中,经常需要采购试剂和试剂盒、配制实验试剂,检验人员应熟悉化学试剂的品级规格及其用途,熟悉试剂盒的选择原则,以便在实际工作中能正确选用。

(一) 化学试剂规格要求

化学试剂是指为实现化学反应而使用的化学药品。我国参照进口化学试剂的质量标准,对通用试剂制定四种常用规格,一级试剂(即保证试剂,绿色标签, guarantee reagent, GR)、二级试剂(即分析纯试剂,红色标签, analytical reagent, AR),三级化学纯试剂(即化学纯试剂,深蓝色标签, chemical pure, CP),四级实验试剂(即实验试剂,黄色标签, laboratory reagent, LR)。对特殊用途的试剂另作规定,如用于色谱分析试剂为色谱纯试剂。化学试剂的品级、纯度和用途见表4。

表4 一般化学试剂的品级、纯度和用途

| 品级 | 一级试剂 | 二级试剂 | 三级试剂 | 四级试剂 |
|------|-------------------------|-------------------------|-------------------|--------------------|
| 国内标准 | 优级纯(保证试剂) GR 绿色标签 | 分析纯(分析试剂) AR 红色标签 | 化学纯 CP 蓝色标签 | 实验试剂 LR 黄色标签 |
| 国外标准 | AR | CP | LAP | |
| | 纯度高、杂质含量低,适用于研究和配制标准液 | 纯度较高、杂质含量较低,适于定性和定量分析 | 质量略低于二级试剂,用途近二级试剂 | 纯度较低,用于一般定性试验 |

(二) 化学试剂的选用

1. 化学试剂的选用原则 实验中选择何种品级试剂,应根据检验方法的要求及样品中被测物含量来决定,应把试剂的选用标准和要求与方法的精密度和灵敏度结合起来加以考虑。干扰因素较多、含微量被测物的样品测定时,必须选用品级、纯度较高试剂,如微量元素测定必须用一级试剂;作标准物的试剂须选用品级高的试剂;一般的定性检验可选用实验试剂。试剂纯度越高,由试剂引起的误差就越小。

2. 化学试剂使用的注意事项

(1) 核对瓶签:所用试剂必须有瓶签,应核对品级、纯度、含有成分的百分率和不纯物(杂质)的最高数据及化学分子式。

(2) 观察试剂性状有无变质:有些化合物本身不稳定,经过长期贮存会逐渐发生分解、氧化、还原、聚合、升华、蒸发、沉淀析出等变化。一旦出现混浊、沉淀、颜色改变等,一般不再使用,应弃之。有的可重新蒸馏纯化后再用。

(三) 实验试剂的配制与管理

试剂配制分为两大类:一类是直接配制法,适用于标准溶液和一般溶液配制;另一类是间接配制法,适用于不易恒重的固体试剂和含量不准的液体试剂,即先配出大约浓度的溶液,再用标准溶液标定出准确的浓度,如酸碱溶液、 KMnO_4 溶液、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液的配制。试剂配制与管理有一定的要求和使用原则。

1. 登记 建立试剂登记与双查双签制度。配制者应在试剂登记簿上登记配制试剂配方,配方应体现原试剂级别、浓度、pH、加入先后顺序、配制方法及配制总量等,要求计算准确,固体试剂和液体试剂应以瓶签所注明的化学式、比重和百分含量作为计算组成量的依据。配制总量应根据其工作量与试剂保存期限来确定。最后由另一人核对并双人签名。

2. 试剂恒重 部分化学试剂在存放过程中会吸收空气中的水分,用适当的方法除去吸收的水分,使试剂恢复到吸潮前的状态,这一过程称为恒重。需要恒重的试剂在使用前必须进行恒重,应注意不同试剂的恒重方法不尽相同。

3. 试剂的纯化与称重 部分试剂本身纯度不够,或在贮存过程中会发生氧化(如邻甲苯胺、胆红素等)、分解(如丙烯酰胺)、聚合(如甲叉双丙烯酰胺)等反应,使其变得不符合使用要求,需要在使用前对这些试剂进行一定的处理,使其纯度满足要求。试剂的称重是决定所配试剂浓度准确与否的关键一环,称重必须准确。一般称取固体试剂,应采用称量瓶、玻璃纸等盛放;对易潮解、易挥发的试剂称量应迅速;标准物需用万分之一天平称取。

4. 溶剂 试剂配制中的溶剂一般为蒸馏水或去离子水,特殊试剂或非水为溶剂的试剂应注明清楚。蒸馏水的水质(即外观、pH、氯化物及硫酸盐等指标)必须符合规定。配制一些特殊要求的试剂时,所用的蒸馏水还需作特殊处理,如微量元素测定用水必须经双重蒸馏,血氨测定要用无氨蒸馏水。

试剂配好后要在试剂瓶上写明名称、浓度、配制时间,必要时还应注明用途、用量。

5. 试剂的保管 为了保证试剂质量,延长试剂有效期,科学存放试剂至关重要。妥善保管试剂具有两方面含义,一是保证安全,如剧毒、麻醉、易燃、易爆、腐蚀品等的保管;二是保证质量,防止变质。保证安全主要在于加强责任心。保证质量、防止变质主要有如下措施:分类按顺序存放,强氧化剂和易燃品必须严格分开,挥发性酸或碱不能跟其他试剂混放;贮于干燥冷暗处,一部分见光易分解的化学试剂要盛装在棕色瓶中,并注意避光;严密封盖,必要时加蜡封口,特别是易潮解吸湿、失水风化类试剂;需冷藏保存的试剂并非温度越低越好,应根据瓶签上标示的贮存温度分别置冰箱、冰盒或低温冰箱中。

(四) 生化试剂盒的选择与使用

商品试剂与校准品按检测项目组合成一套放在一个包装盒内叫试剂盒(reagent kit)。在临床工作中,生化检验指标的检测多采用商品化的试剂盒,同一项目可有多厂家生产的产品供检验人员选择。

1. 生化检验试剂盒的类型 临床生化诊断试剂按剂型分类有液体型、粉剂型、片剂型;按试剂种类分类有单一试剂、双试剂、多试剂等。目前以液体型为主要剂型,其优点是试剂组分高度均一,瓶间差异小,测定重复性好和使用方便;无需加入任何辅助试剂及蒸馏水,避免了外源性水质对试剂的影响;性能较稳定,测定结果较为准确。缺点是保存时间较短,不便于运输。液体型试剂分为单试剂和双试剂。

(1) 液体单试剂:将某种生化检验项目所用到的试剂按一定顺序科学地混合在一起,组成一种试剂即为液体单试剂。应用时,只需将标本和试剂按一定比例混合,即可进行相应的生化反应,然后用适当的方法检测结果。具有操作简便快速、测定结果可靠等优点。但对有些生化检验项目来说,存在抗干扰能力差的缺点,给测定结果带来较大的分析误差。例如,甘油三酯测定的一步法试剂,由于未消除样品中的游离甘油,使测定结果中包括了内源性甘油(平均约为0.11mmol/L),会给甘油三酯的测定值带来较大的误差。类似的情况还见于维生素C、尿酸和胆红素对Trinder反应(偶联终点比色法)的干扰,内外源性 NH_4^+ 对尿素酶法测定的干扰,以及内源性丙酮酸对ALT、AST测定的干扰等。

(2) 液体双试剂:液体双试剂就是将生化检测项目所用到的试剂,按用途科学地分成两类,分别配成两种试剂,第一试剂加入后可起到全部或部分消除某些内源性干扰的作用,第二试剂为启动被检测物质反应的试剂,两种试剂混合后才共同完成被检项目的生化反应。它保持了单试剂的优点,增强了抗干扰能力和试剂的稳定性,提高了测定结果的准确性。