

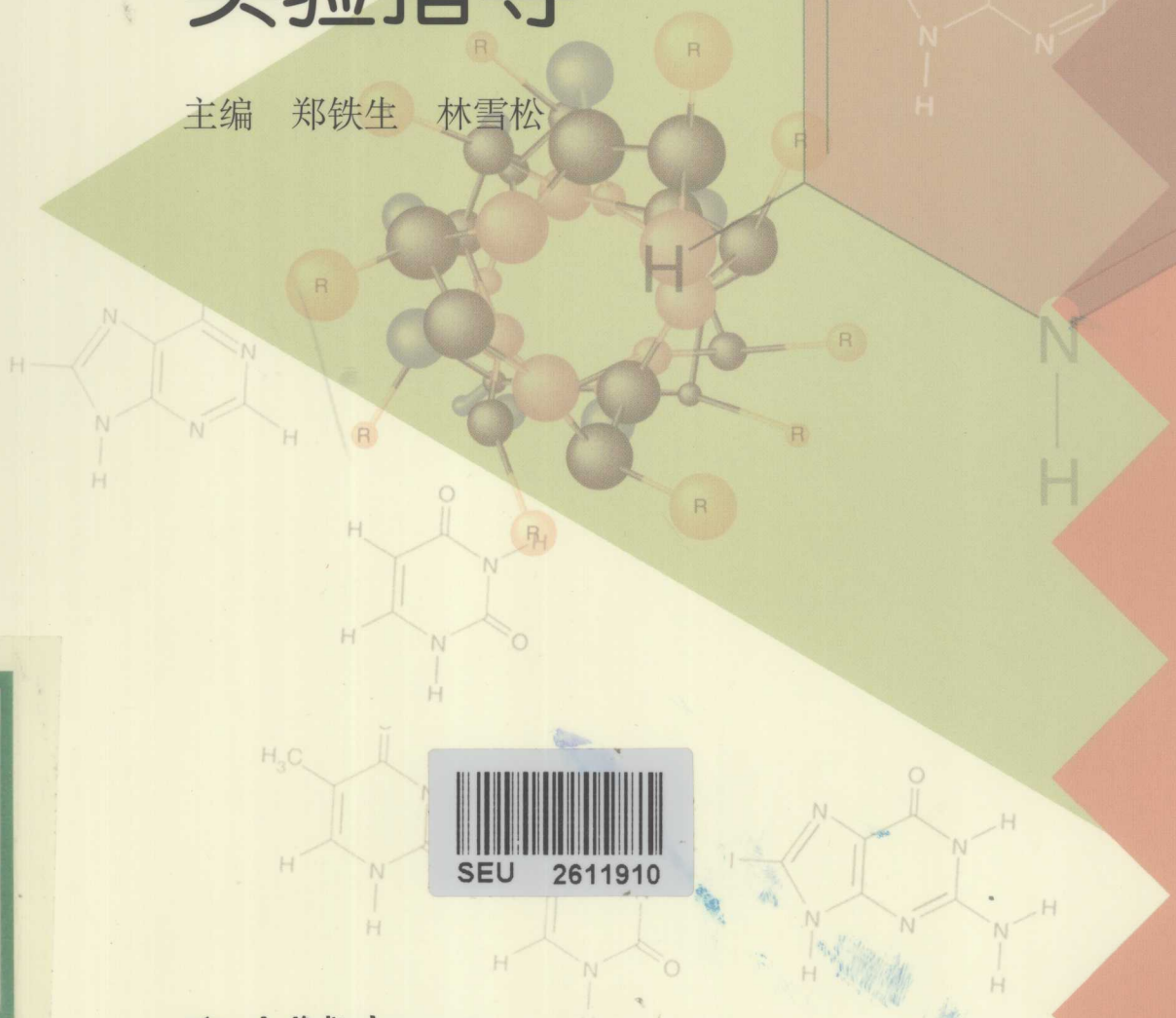
全国高等学校“十二五”医学规划教材

医学教育改革教材

(供医学检验专业用)

# 临床生物化学检验 实验指导

主编 郑铁生 林雪松



 高等教育出版社  
HIGHER EDUCATION PRESS

2611910

全国高等学校“十二五”医学规划  
医学教育改革教材  
(供医学检验专业用)

R446.1  
82

# 临床生物化学检验

Linchuang Shengwu Huaxue Jianshan

## 实验指导

Shiyan Zhidao

主 编 郑铁生 林雪松

副主编 姜旭淦 陈 安

编 者 (以姓氏笔画为序)

马 洁(江苏大学)

王会岩(吉林医药学院)

刘雪平(天津医科大学)

李洪春(徐州医学院)

张 琼(新疆医科大学)

陈 安(第三军医大学)

郑铁生(江苏大学)

林雪松(哈尔滨医科大学)

姜旭淦(江苏大学)

袁永强(重庆医科大学)

曹珮华(西安医学院)

曾小莉(首都医科大学)

秘 书 马 洁



高等教育出版社·北京  
HIGHER EDUCATION PRESS BEIJING

质检

数字课程

# 临床生物化学检验 实验指导

## 登录方法:

1. 访问 <http://res.hep.com.cn/34985>
2. 输入数字课程账号(见封底明码)、密码
3. 点击“LOGIN”、“进入 4A”
4. 进入学习中心

账号自登录之日起一年内有效,过期作废。  
使用本账号如有任何问题,  
请发邮件至: [medicine@pub.hep.cn](mailto:medicine@pub.hep.cn)

登录以获取更多学习资源!

## 临床生物化学检验实验指导

郑铁生 张朝霞 主编

内容介绍 | 纸质教材 | 相关资源 | 版权信息 | 联系方式



### 内容介绍

本数字课程是《临床生物化学检验实验指导》纸质教材的配套资源,为读者提供了实验备课资源、实验教学资源、拓展知识资源、学习指导资源等。数字课程资源与教材内容相呼应,贯穿在整个教学环节中。可供读者完善学习内容,能满足多样化、个性化、实用化的教与学的需求。

高等教育出版社版权所有 ©2012

<http://res.hep.com.cn/34985>

## 内容介绍

本书是配合《临床生物化学检验》开展实践性教学的指导书,以检验技术为主线,设计构建了临床生物化学检验基本技能性实验、综合应用性实验和设计创新性实验三大实验模块。全书分四章,共28组37项实验。实验内容兼顾不同院校的教学条件,另配有与本书配套使用的内容丰富、先进实用的网络教学资源。

本书可供高等医药院校医学检验专业本科、专科和成人教育(专升本)学生使用,也可供从事临床检验工作和医学研究的技术人员参考。

## 图书在版编目(CIP)数据

临床生物化学检验实验指导/郑铁生,林雪松主编.

—北京:高等教育出版社,2012.5

供医学检验专业用

ISBN 978-7-04-034985-6

I. ①临… II. ①郑…②林… 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(2012)第068580号



策划编辑 孙葵葵  
责任印制 朱学忠

责任编辑 孙葵葵

特约编辑 宣慧娟

封面设计 于文燕

出版发行 高等教育出版社  
社 址 北京市西城区德外大街4号  
邮政编码 100120  
印 刷 涿州市星河印刷有限公司  
开 本 787mm×1092mm 1/16  
印 张 8.75  
字 数 200千字  
购书热线 010-58581118

咨询电话 400-810-0598  
网 址 <http://www.hep.edu.cn>  
<http://www.hep.com.cn>  
网上订购 <http://www.landaco.com>  
<http://www.landaco.com.cn>  
版 次 2012年5月第1版  
印 次 2012年5月第1次印刷  
定 价 19.00元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换  
版权所有 侵权必究  
物料号 34985-00



---

# 前 言

---

本实验指导是根据《教育部关于“十二五”普通高等教育本科教材建设的若干意见》(教高〔2011〕5号)文件关于“加强实践性教材建设”的精神,编写配合理论教学,开展实践性教学的指导教材。编写的指导思想是:以临床生物化学检验技术为主线,注重培养科学态度严谨、实践能力强、综合应用能力强、开拓创新能力强的<sup>①</sup>高等医学检验人才。

本教材设计构建了临床生物化学检验基本技能性、综合应用性和设计创新性三大实验模块。所选实验项目,应用性强、技术性高、代表性好;能举一反三、循序渐进,以便在有限的实验教学时间内达到较好的教学效果。实践环节:一是学习掌握临床生物化学检验实验室的基本知识,以提高实验安全意识,掌握实验试剂、器材的选择、使用、维护与管理知识,为作好实验打基础;二是开设基本技能性实验,主要学习和掌握本课程的基本技术、基本操作和基本技能;三是开设综合应用性实验,培养学生运用所学知识综合分析问题、解决问题和从事临床生物化学检验实际工作的能力;四是指导学生进行设计创新性实验,以培养学生的思维能力和开拓创新的能力。

本教材分设四章,共 28 组 37 项实验。实验内容兼顾不同院校的教学条件,供各校选择。每项实验前设有【实验项目背景】,实验后有【实验结果与处理建议】,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 4 个附录和主要参考文献,以便查阅。

在配套的数字实验教材中,着重在指标测定的方法学评价和临床应用上进行了深入拓展,对实验的反应原理全部用化学反应方程式来表达,并吸纳了反映本学科前沿知识、新技术和新进展。在配套的网络教材中,开发了一套与本教材各实验内容同步使用的网络教学资源系统,资源框架贯穿在整个教学环节中。内容丰富,形式多样,能满足多样化、个性化、实用化的教与学的需求。

本教材可供高等医药院校医学检验专业本科生和成人教育(专升本)学生使用,也可供从事临床检验工作和医学研究的技术人员参考使用。

在本教材编写中,得到了高等教育出版社医学分社领导的指导,得到了江苏大学等全国 28 所高等医药院校的热情关心和支持,在此表示衷心的感谢。

本教材由长期从事临床生物化学检验教学和临床实践工作的专家教授共同编写,但由于水平有限,肯定有许多不足之处,敬请同行专家和读者提出宝贵意见和建议,以便再版时修改完善。

郑铁生

2012 年元月

# 目 录

第一章 临床生物化学检验实验室基本技术	1
一、实验室安全知识	1
二、实验用水	2
三、实验试剂选择、使用与管理	5
四、常用实验器材的使用和维护	7
五、实验报告的书写	11
第二章 临床生物化学检验基本技能性实验	13
实验一 血清蛋白质测定	13
一、双缩脲比色法测定血清总蛋白质	13
二、溴甲酚绿法测定血清清蛋白	15
实验二 乙酰丙酮显色法测定血清三酰甘油	17
实验三 化学比色法测定血清钙、磷、镁	19
一、邻甲酚酞络合酮比色法测定血清总钙	19
二、还原钼蓝比色法测定血清磷	20
三、甲基麝香草酚蓝比色法测定血清镁	22
实验四 亚铁嗪显色法测定血清铁和总铁结合力	23
实验五 改良 J-G 法测定血清胆红素和结合胆红素	26
实验六 赖氏法测定血清丙氨酸氨基转移酶	29
第三章 临床生物化学检验综合应用性实验	33
实验七 分光光度计的性能检查和调校	33
实验八 半自动生化分析仪的性能评估	36
实验九 自动生化分析仪性能评价	39
实验十 临床生物化学检验方法学评价	42
一、重复性试验	42
二、回收试验	43
三、干扰试验	44
四、方法比较试验	46

实验十一 临床生物化学检验试剂盒性能评价 .....	47
一、线性范围试验 .....	47
二、时间反应曲线试验 .....	48
三、稳定性试验 .....	50
实验十二 临床生物化学检验室内质控图的绘制 .....	50
实验十三 室间质量评价和能力验证 .....	53
一、室间质量评价 .....	53
二、PT 方案 .....	54
实验十四 免疫化学法测定生化代谢物 .....	55
一、免疫透射比浊法测定血清载脂蛋白 A I 和 B100 .....	55
二、免疫透射比浊法测定 C 反应蛋白 .....	57
实验十五 色谱法测定生化代谢物 .....	59
一、高效液相色谱法测定血清苯妥英钠 .....	59
二、高效液相色谱法测定糖化血红蛋白 .....	61
实验十六 离子选择电极法测定血清无机离子 .....	63
实验十七 血气分析和 pH 测定 .....	66
实验十八 自动生化分析仪实际 K 值测定 .....	69
一、340 nm 波长实际 K 值测定 .....	70
二、405 nm 波长实际 K 值测定 .....	71
实验十九 连续监测法测定酶活性 .....	73
一、色素原底物反应的连续监测法测定 .....	73
二、脱氢酶参与的连续监测法测定 .....	75
三、过氧化物酶反应的连续监测法测定 .....	77
实验二十 琼脂糖电泳法测定乳酸脱氢酶同工酶 .....	79
实验二十一 脱氢酶指示系统测定血清碳酸氢离子 .....	81
实验二十二 过氧化物酶指示系统测定代谢物 .....	83
一、酶偶联终点法测定血清 HDL 及其亚类胆固醇 .....	83
二、肌氨酸氧化酶法测定血清肌酐 .....	86
实验二十三 酶循环法测定血清总胆汁酸 .....	88
<b>第四章 临床生物化学检验设计创新性实验 .....</b>	<b>92</b>
实验二十四 临床特定标本对血清肌酐测定的干扰评价 .....	92
实验二十五 基质效应对生化检测结果的影响 .....	97
实验二十六 临床生物化学检验单双试剂对比研究 .....	100
实验二十七 还原性物质对过氧化物酶指示系统测定的干扰 .....	102
实验二十八 生化检测系统分析性能的可接受性评价 .....	105

---

附录 .....	110
附录 1 药物对实验室检查结果的影响 .....	110
附录 2 临床生物化学检验常用缓冲溶液的配制 .....	113
附录 3 常用玻璃量器标称容量的允许误差标准(mL, 20℃) .....	122
附录 4 Grubbs 检验临界值 $G_{\alpha, n}$ 表 .....	123
主要参考文献 .....	124
中英文名词索引 .....	125

---

# 第一章 临床生物化学检验

## 实验室基本技术

---

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毒性很强,或有腐蚀性,或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及瓷质器皿,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、面罩或其他的眼部和面部防护用品。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,进行实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,才可在开放的实验台面上进行,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,在实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。若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,并及时到急诊室就诊,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 500 mg/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 1 000~2 000 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 1 h。

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,若不慎将其溅到实验台或地面上,必须及时用湿抹布擦洗干净。强碱(如氢氧化钠,氢氧化钾)接触皮肤时,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。酚类接触皮肤,应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。低沸点的有机溶剂禁止在火上直接加热,只能在水浴上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,严禁私自使用电炉取暖。②使用电器设备(如烘箱、恒温水浴锅、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,采取好防患措施,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、电渗析等处理,除去杂质,即成实验用纯水。

### (一) 实验用纯水的制备方法

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。蒸馏法制水耗能大,冷却水消耗亦多,同时需注意管道的清洁。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  $\text{N}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$  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  $\text{H}^+$  和  $\text{OH}^-$  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(相对分子质量  $< 500$ )、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装有活性炭柱来处理自来水,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  $0.20 \sim 0.45 \mu\text{m}$  滤膜过滤。

## (二) 实验用纯水的贮存方法

在实际工作中,应重视纯水的贮存、运输和使用过程,防止使纯水等级下降。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) 实验用纯水的质量要求和水质检测

1. 实验用纯水标准 水的质量好坏直接影响试剂的质量,也会影响检测结果的准确性和精

密度。1987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(表1-1)。1992年中国国家技术监督局批准实施的《分析实验室用水规格和试验方法》(GB6682—92)主要参数见表1-2。

表1-1 国际标准化组织纯水标准(ISO 3696:1987)

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( $\text{mg}/\text{kg}$ , 110℃) $\leq$	—	1.0	2.0
最大吸光度(254 nm, 1 cm 比色皿)	0.001	0.01	—
SiO <sub>2</sub> 最大含量( $\text{mg}/\text{L}$ )	0.01	0.02	—
最大耗氧量( $\text{mg}/\text{L}$ )	—	0.08	0.4

表1-2 分析实验室用水规格标准(中国国家技术监督局 GB6682—92)

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( $\text{mS}/\text{m}$ , 25℃) $\leq$	0.01	0.10	0.50
比电阻( $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ , 25℃) $\geq$	10	1	0.2
可溶性硅(以 SiO <sub>2</sub> 计, $\text{mg}/\text{L}$ ) $<$	0.01	0.02	—
吸光度(254 nm, 1 cm 光程) $\leq$	0.001	0.01	—
可氧化物质(以 O 计, $\text{mg}/\text{L}$ )	—	0.08	0.4
蒸发残渣( $\text{mg}/\text{L}$ , 105℃ $\pm$ 2℃) $\leq$	—	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1-3。不同等级纯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1-3 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 一般实验室检验,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、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$  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  $1\text{ S}=1\ \Omega^{-1}$ ;每厘米长的电导为电导率(S/cm)。电导仪表头读数单位为  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ,  $1\ \mu\text{S}/\text{cm}=1\times 10^{-6}\ \text{S}/\text{cm}$ ,即当电导仪读数为 1 时,其电阻率为  $1\times 10^6\ \Omega(1\ \text{M}\Omega)/\text{cm}$ 。

(2) 可溶性硅定性检验方法:纯水 10 mL 加入 1%的钼酸溶液 15 滴,草酸硫酸混合液(4%草酸 1 份加 4 mol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$  3 份)8 滴,摇匀,置室温 10 min,滴加 1%硫酸亚铁溶液 5 滴摇匀,以不显蓝色为合格( $\leq 0.05\ \text{mg}/\text{L}$ )。

### 三、实验试剂选择、使用与管理

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,即一级试剂(即保证试剂,guarantee reagent,GR,一般瓶上用绿色标签)、二级试剂(即分析纯试剂,analytical reagent,AR,一般瓶上用红色标签),三级化学纯试剂(即化学纯试剂,chemical pure,CP,一般瓶上用深蓝色标签),四级实验试剂(即实验试剂,laboratory reagent,LR,一般瓶上用黄色标签)。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 1-4。

表 1-4 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)	分析纯(分析试剂)	化学纯	实验试剂
	GR	AR	CP	LR
	绿色标签	红色标签	蓝色标签	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,用于一般定性实验

#### (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。例如,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。一般来说,试剂纯度越高,由试剂引起的误差就越小。

#### 2. 化学试剂选用使用的注意事项

(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、 $\text{KMnO}_4$  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的配方,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、相对密度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. 试剂的纯化与称量 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。试剂的称量是决定所配试剂浓度准确与否的关键一环,称量必须准确。一般固体试剂称取,应采用称量瓶、玻璃纸等盛放试剂;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;贮存于干燥冷暗处,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

商品试剂与标准液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;无须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科学地混合在一起,组成为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,给测定结果带来相当大的分析误差。例如,三酰甘油测定的一步法试剂,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  $0.11 \text{ mmol/L}$ ),会给三酰甘油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 反应的干扰,内外源性  $\text{NH}_4^+$  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。

## 2. 选购试剂盒的要求和注意事项

(1) 选购试剂盒的一般要求:①所采用的测定方法特异性好,灵敏度、准确度、精密度符合卫生部临床检验中心、IFCC、WHO 等推荐的方法性能。②试剂盒的贮存期应尽可能长。③水溶性、低黏性、无腐蚀、无毒害、不爆炸、不易燃、不污染环境。④所用标准品或标准参考物符合卫生部临床检验中心、IFCC、WHO 推荐的标准和要求。

(2) 选购试剂盒的注意事项:①首先要仔细阅读试剂盒的说明书,对试剂盒选用方法有所了解。对试剂盒的组成、方法性能指标加以分析,是用于手工操作,还是用于自动分析仪。如属于后者,其实验参数是否与本单位自动分析仪的实验参数相符。②有无卫生部的批准文号。凡已列入卫生部临床检验体外诊断试剂审批管理范围的试剂盒,没有生产批准文号的,不应使用。对有生产批准文号者,也需考察生产厂家的信誉。③对试剂盒的包装、理学性能、方法学性能指标进行考察和检测,并经实际应用证实符合说明书规定及本室实验要求者方可选购。④根据本单位的日工作量、分析仪试剂用量、试剂复溶后  $4^\circ\text{C}$  稳定期等因素综合分析,应选购合适包装、近期出厂的产品。⑤注意季节对试剂质量的影响。一般在气温较低的季节购买试剂,防止试剂盒在运输途中变质。

## 四、常用实验器材的使用和维护

临床生物化学检验实验常用器材包括玻璃器皿、加样器、水浴箱、离心机等。掌握这些常用器材的正确使用和维护方法,对保证实验结果的准确性至关重要。

### (一) 玻璃器皿的清洗、使用

1. 玻璃器皿的分类 玻璃器皿分为容器类和量器类。容器类玻璃器皿为常温或加热条件下物质的反应容器和贮存容器,包括试管、烧杯、锥形瓶、滴瓶、漏斗等。量器类玻璃器皿用于计量液体体积,包括量筒、移液管、吸量管、容量瓶、滴定管等。

2. 普通玻璃器皿的清洗 根据实验目的不同,清洗液的种类和配置方法也不同,冲洗方法也不同。



(1) 新购玻璃器皿的清洗:新购的玻璃器皿表面常附着有游离的碱性物质,可按照下列程序清洗:①选用大小合适的毛刷,用肥皂水(或去污粉)洗刷内外表面(内壁用旋转手法刷洗);②用自来水冲洗至容器壁不挂水珠;③在1%~2%盐酸溶液中浸泡过夜(不少于4 h);④用流水冲洗干净;⑤用蒸馏水冲洗2~3次;⑥在100~130℃烘箱内烤干备用。

(2) 使用过的玻璃器皿的清洗:容器类玻璃器皿使用后应立即浸泡于清水中,以免沾污物质干涸。清洗时按照下列程序操作:①用自来水洗刷至无污物;②选用大小合适的毛刷沾取去污粉(掺入肥皂粉)刷洗器皿内外(内壁用旋转手法刷洗);③用自来水冲洗干净;④用蒸馏水冲洗2~3次;⑤烤干或倒置在清洁处,干后备用。

量器类玻璃器皿使用后应立即浸泡于凉水中,勿使沾染物质干涸。清洗时按照下列程序操作:①用流水冲洗,除去附着的试剂、蛋白质等物质;②晾干,在铬酸洗液中浸泡4~6 h(或过夜);③用自来水充分冲洗干净;④用蒸馏水冲洗2~4次,晾干备用。

(3) 清洁液的配制和使用:清洁液的配方有数种(表1-5),可按需要选用。

表1-5 清洁液的配方

配方	1	2	3
重铬酸钾(g)	80	50	200
粗浓硫酸(mL)	100	900	500
水(mL)	1 000	100	500

配制时,先将重铬酸钾溶于水,加热助溶,待冷。然后将工业用浓硫酸缓慢加入上液中,边加边搅拌,切勿过快,以免产生高热使容器破裂。切忌把重铬酸钾溶液向硫酸中倾倒。配制时,根据用量选用烧杯或陶瓷缸做容器。因其吸水性较强,故应加盖贮存,盛放清洁液的容器应放置在无人走动的固定位置。

清洁液的腐蚀性强,使用时注意不要溅到皮肤和衣服上。如果清洁液的颜色逐渐变为绿色,表示效力降低,可再加入适量的重铬酸钾和浓硫酸,还可继续使用;如已变成黑色,则不能再用。

清洁液适用于事先清洗过但未能洗净的玻璃器皿,但需在器皿干燥后浸泡。未清洗或未消毒的器皿不要直接浸泡于清洁液中,否则会使清洁液迅速失效,降低洗涤能力。

### 3. 普通玻璃器皿的使用

(1) 量筒:量筒是实验中常用的度量液体的量器,用于不太精密的液体计量,用充量表示。量筒不能用作反应容器,不能装热的液体,更不可对其加热。

使用时根据需要选用各种不同容量规格的量筒。例如量取8 mL液体时,应选用10 mL量筒(测量误差为±0.1 mL);如果选用100 mL量筒量取8 mL液体体积,则至少有±1 mL的误差。

读取量筒刻度值时,一定要使视线与量筒内液面(半月形弯曲面)的最低点处于同一水平线上,否则会增加体积的测量误差。

(2) 容量瓶:容量瓶主要是用于把精密称量的物质配制成准确浓度的溶液,或是将准确容积及浓度的浓溶液稀释成准确浓度及容积的稀溶液。

容量瓶是一种细颈梨形的平底瓶,瓶颈上有环形标线,表示在所指温度下(一般为20℃)液体充满至标线时的容积。常用的容量瓶有25 mL、50 mL、100 mL、250 mL、500 mL、1 000 mL



等规格。

容量瓶与瓶塞要配套使用,使用前应检查是否漏水。工作中不要一次性地将溶液加至刻度。不宜用容量瓶长期存放溶液。另外,容量瓶不能在烘箱中烘烤,不能以任何形式对其加热。

(3) 吸量管:吸量管是用于准确量取一定体积液体的量出式的玻璃量器,常用的吸量管有三类:奥氏吸量管、移液管和刻度吸量管。

刻度吸量管常用于量取 10 mL 以下任意体积的液体。每根吸量管上都有许多等分刻度,刻度标记有不同方式,常见的有全流出式和不完全流出式两种。全流出式吸量管的上端常标有“吹”字,刻度包括尖端部分,欲将所量取液体全部放出时,应将管尖的液体吹出。不完全流出式吸量管的刻度不包括吸量管的最下部分,使用时放液至相应的容量刻度线处即可。

近来为便于准确快速地选取所需的吸量管,国际标准化组织统一规定:在刻度吸量管的上方印上各种彩色环,不完全流出式在单环或双环上方再加印一条宽 1~1.5 mm 的同颜色彩环,其容积标志见表 1-6。

表 1-6 刻度吸量管的容积标志

标准容量(mL)	0.1	0.2	0.25	0.5	1	2	5	10	25	50
色标	红	黑	白	红	黄	黑	红	橘红	白	黑
环数	单	单	双	双	单	单	单	单	单	单

用吸量管移取溶液时,应规范操作。移取溶液时,用右手的大拇指和中指拿住管上方,无名指和小指分置吸量管前后协助固定,示指向上配合左手操作。吸量管下端插入溶液中 1~2 cm,左手用吸耳球慢慢将溶液吸入管内。当液面升高到刻度以上时,立即用右手的示指按住管口,将吸量管下口提出液面,管的末端靠在盛溶液器皿的内壁上,略放松示指,使液面平稳下降,直到溶液的弯月面与标线相切时,立即用示指压紧管口,使液体不再流出。取出移液管(吸量管),以干净滤纸片擦去吸量管末端外部的溶液,然后插入承接溶液的器皿中,使管的末端靠在器皿内壁上。此时吸量管应垂直,承接的器皿倾斜,松开示指,让管内溶液自然地沿器壁流下,等待 10~15 s 后,拿出吸量管。

(4) 试管:常用规格为 10 mm×75 mm、13 mm×100 mm、15 mm×150 mm 等,用玻璃或塑料制成。试管规格和质量的选择依实验而定。现在实验室多使用化学清洁的一次性试管,以保证实验的质量。

(5) 烧杯:烧杯是用于盛放液体、加热和溶解试剂时常用的玻璃器皿,经常与容量瓶配合使用。使用时切勿用手接触其内壁,溶解或混匀试剂时可用玻璃棒轻轻搅拌助溶或助匀。烧杯内试剂倾入容量瓶时,注意多次冲洗烧杯,一并倾入容量瓶内。

(6) 漏斗:漏斗多用于过滤和收集沉淀物。在定量分析中,选用大小合适的滤纸,对角折叠两次后按 1:3 分开放入漏斗内,纸的边缘不能超出漏斗上缘,滤纸的大小要与欲过滤液量相配,过大会使滤液回收量减少、所含成分浓缩从而影响实验的结果。

### 拓展知识 1-1

#### (二) 加样器的使用

加样器是精密量器,只能在特定的量程范围内使用,因此,使用时应选用量程合适的加样器。加样器下段为可装卸可更换的吸液嘴,用加样器上方的“推进按钮”定量采取液体。加样器有固