

述 论

生物化学检验技术是运用化学、生物化学、医学等学科的理论 and 实验技术对人体化学成分及含量进行检测分析的一门学科。它为临床医学研究生物化学实验方法与技术，并通过简易、快速的操作方法获得准确的、适用于临床医学的实验结果。其分析结果是临床用来预防、诊断与治疗疾病，以及判断疾病转归的重要信息，也是医学理论研究的资料。生物化学检验技术在临床医学中的作用和地位已备受重视，是各级医院以及医学检验中心不可缺少的组成部分，其服务质量与整体医疗水平和疾病防治效果直接相关。

生物化学检验技术是由多学科相结合而形成与发展的应用学科。多学科综合性为生物化学检验技术学科之特征，它不仅以无机化学、有机化学、分析化学、生物化学和临床医学的理论和技术为基础不断发展，其他学科领域的新成就，如数学、物理学、电子学、生物学、免疫学及计算机科学等也极大地促进了生物化学检验技术的发展。

19 世纪至 20 世纪初，化学家、生理学家和临床医生开始研究人体健康与疾病状态时化学成分的变化，包括血液与尿液中蛋白质、糖及无机物等，多采用传统的重量分析和滴定分析法，这些方法灵敏度较低，标本用量多，方法繁琐，耗费时间长，不能满足临床医学的需要。比色法和分光光度法的建立，使这一研究领域发生了根本性变化。20 世纪初，特别是从 1904 年 Otto Folin 教授用比色法测定肌酐开始，建立了测定血液生物化学成分的一系列比色分析法，奠定了血液化学分析的基础。我国生物化学家，吴宪教授在血液化学成分分析、无蛋白血液制备，以及改良和发展新的比色分析方法等方面作了一系列工作，并报告了我国成人血液化学成分的正常参考值。20 世纪 30 年代后，由于光电比色计和分光光度计的应用，临床生物化学检验技术才发生根本性的改观。至今，分光光度法仍是临床生物化学分析的重要方法之一。随后，电位分析技术、电泳技术、层析技术、核素技术、荧光技术、免疫化学技术、酶免疫技术以及干化学分析技术等相继出现，使生物化学检验技术向高灵敏、超微量和特异性的方向发展。

酶学研究成果对生物化学检验技术的发展有极大地促进作用。20 世纪 50 年代后，开始测定血清酶活力作为监测细胞、组织器官损害，以及肿瘤生长的指标，诊断酶学的测定项目不断增多。更重要的是发现和提纯了不少工具酶，并将工具酶用来测定人体体液成分以及其他酶的活力，开辟了酶学分析的新技术。酶学分析技术使体液中许多成分，如葡萄糖、胆固醇、甘油三酯（三酰甘油）等，既能用化学方法测定，又能用酶学方法测定，而酶学方法的灵敏度和特异性大大提高，也为自动化分析奠定了基础。

分子生物学的发展又将生物化学检验技术提高到一个新的水平。聚合酶链反应（PCR）技术被用于检测人体内源性 with 外源性致病基因。基因芯片与蛋白芯片技术为基因组学与蛋白组学的临床应用提供了检测手段，这些又成为生物化学检验技术中的崭新领域。

实现自动化分析是生物化学检验技术发展的必然。20 世纪 60 年代中期，由于临床生物

化学检测范围迅速扩大，检测项目不断增加，促进了分析仪器的机械化和自动化，各种生物化学自动分析仪相继问世，生物化学检验技术已从过去的手工滴定、化合物颜色反应进入到一个全新的自动化微量分析时代。随着计算机数据处理系统应用于自动化分析技术，使生物化学分析仪的检测速度越来越快，现有仪器的检测速度可达到 2 500 个测试 / 小时，并改进了生物化学自动分析仪对分析结果的处理和报告方式，实现了由单一检测结果报告到多项检测结果组合报告的转变。为了解某一器官的功能概貌，可组合一系列相关试验，经综合分析给出临床评价。目前在心肌损害、肝功能、肾功能、内分泌功能、血脂分析与肿瘤标志物等检测方面的组合试验已被临床广泛使用。21 世纪随着高科技的迅速发展，发达国家的临床生物化学自动分析进一步走向自动化、智能化和系统化，如样品处理自动化、模块式自动化和全实验室自动化等。目前，国内许多临床生物化学实验室自动化设备已基本达到国外同类实验室水平。

生物化学检验自动化分析带动了商品试剂盒的研制。标准化商品试剂盒的出现，使各个实验室自行配制分析试剂成为历史。商品试剂盒促进了生物化学检验方法学的统一，规范了检测程序，提高了分析质量。商品试剂盒在商业竞争中优胜劣汰，使最新技术与最新试剂可以迅速在国际上应用，加快了生物化学检验技术的发展。

生物化学检验结果的可靠性直接影响医疗质量。影响临床生物化学检验结果的因素有方法学因素与非方法学因素，后者包括分析前与分析后的诸多环节，如临床医师选择项目、患者状态、标本采集、标本运送、标本前处理、分析后复核、结果登记及填发报告等，任何一个环节处理不当，均会影响生物化学检验结果的准确性。因此，生物化学检验技术不仅研究方法学，还研究非方法学影响因素。从 20 世纪中叶至今，临床生物化学检验开始建立并不断完善全面质量控制 (total quality control, TQC) 体系，生物化学检验质量控制技术作为生物化学检验技术不可分割的组成部分，保障与促进生物化学检验技术更好地应用于临床医学。

生物化学检验技术是医学检验专业的主干学科之一。在循证医学时代，临床生物化学检验将发挥越来越重要的作用。本书主要供医学检验专业高职高专学生学习生物化学检验技术课程使用，用来培养医学检验实验室技术人员，以训练学生的生物化学检验操作技能为主要目的。教材以实验技术学为主线，理论与实验合编一体，侧重给予学生有关生物化学检验技术方法学的基本原理、详尽的实验技术程序、操作要点、方法学评价等。实验项目包含临床生物化学实验室常见的检测项目，实验方法尽可能与临床实际接轨，同时也兼顾不同等级医院的需要。应该指出，国际上已将治疗性药物监测作为临床生物化学检验的一部分，监测体液药物浓度的工作在现代化医院中占有的比例也日益增加。在我国，已开始重视这方面的工作，但结合我国具体学科发展的实际情况，这方面的内容未列入本教材。

生物化学检验技术是一门综合性应用学科。学科特征要求学生在学习本课程前，应具备有化学、生物化学以及临床医学等多学科的相关知识。所以，学生在每次课前应自觉地复习有关基础学科课程。生物化学检验技术也是一门实践操作性很强的学科，学生要明确实验课程的重要性，必须做好实验课前预习，掌握或了解实验方法原理、操作程序、技术要领；必须参加实验，亲自动手操作，仔细观察实验现象，详细记录实验结果；必须写好实验报告，分析操作过程，习惯用质量控制的方法评价实验结果，善于将实验操作过程与实验方法理论或将实验测定结果与临床应用结合起来。

生物化学检验技术是一门高科技含量的精细技术，只要勤奋好学，严谨务实，有志献身于医学检验事业，每一位学子都能拥有她！

（周剑涛）

第一章 生物化学检验技术的基本知识

作为一名医学检验技术人员 熟知实验室的工作规则 掌握实验室的基本技术和基础知识 是作好本职工作的重要基础。要掌握的内容很多 其中大部分已在基础课程中学习过。本章主要围绕实验室规则 玻璃仪器的洗涤与干燥 试剂的种类、配制与保存 检验标本的采集与保存 常规诊断试验与参考值等内容 将生物化学检验操作中最常遇到的一些技术问题和基本知识进行阐述。

第一节 临床生物化学实验室工作规则和常识

生物化学检验实验室是学习生物化学检验技术的基本知识、训练和掌握基本技能、培养学生的科学态度和严谨工作作风的重要场所。学生要严格遵守生物化学实验室的规则，并将其贯彻于每次实验的始终，逐渐养成良好的操作习惯。同时熟练掌握生物化学检验技术的基本知识和技能，使自己成为一名基本知识扎实，基本技能过硬的合格医学检验技术人才。

一、实验室一般规则

（一）实验前的要求

认真预习，仔细阅读实验指导，明确实验目的、实验原理、操作程序及注意事项等。认真复习与实验有关的理论知识，以便更好地解释实验现象。准备好工作服及有关物品，熟知安全防护常识。

（二）实验中的要求

实验过程中要认真操作，仔细观察，如实地记录实验现象，严格地按照实验指导和教师的要求去做，努力培养严肃认真、实事求是的科学态度和良好的工作习惯。学生有创造性的想法，一定要与指导教师商量后，再予以实施。

正确使用和维护实验室内的各种仪器、物品。严格按照教师的要求和操作规程进行操作。未经允许不得随意搬动和拆卸。如不慎将其损坏应及时报告指导教师，必要时按规定赔偿。操作中始终保持实验台上物品摆放整齐，使用后及时放回原处。取用试剂后，应及时盖好瓶盖，将试剂瓶放回原处。切不可将瓶盖张冠李戴或将吸量管插入试剂瓶中代替瓶盖。公用的试剂或物品，要相互谦让，有计划地轮流使用。

保持实验室内的秩序和整洁，保持室内安静，不得大声喧哗和嬉闹。时刻要把安全放在第一位。注意节约水、电和试剂等。

（三）实验后的要求

每位同学在实验后，应及时将用过的实验仪器和物品整理或清洗好，并按要求摆放整齐，经

教师同意后方可离去。

废液和废弃物，应按照规定或指导教师指定的方式处理，不得随意乱丢或倒入水槽，以防堵塞和腐蚀下水管道或造成环境污染。

值日生要认真打扫实验室的卫生，检查水、电、门窗是否关好。

认真填写并及时上交实验报告。实验报告的内容包括：实验目的、实验原理、实验操作过程和方法、实验结果及讨论和思考题。

二、实验室安全防护规则

生物化学检验操作中要接触大量生物标本，使用易碎玻璃器皿、精密仪器、水、电及其他热源或火源，也会使用到易燃、易爆、腐蚀性和有毒的化学试剂等等，存在一定的安全隐患。为了保障人身安全，爱护国家财产，保证实验的正常进行，熟悉并严格遵守实验室的安全防护规则，是十分重要的。

（一）生物源性危害的防护

生物化学检验实验要采用患者标本或动物标本。标本可能携带有多种病原微生物（如HIV、肝炎病毒、结核或伤寒杆菌和各种寄生虫等）。因此，在实验中，应特别注意防止传染。必要时应带一次性手套。需要保存或运输的生物标本，要在容器上做好特殊标记，容器必须具塞、密封，严防泄漏。

取用生物标本最好使用带一次性塑料头的定量加液器和一次性试管。操作中应避免生物标本污染容器的外壁和实验台，被污染的实验台，要用消毒液擦拭消毒。用后的标本容器，不能焚烧的应当用消毒液处理或高压灭菌后，才能丢入垃圾箱。接触过患者标本的玻璃仪器，必须用消毒液（0.3 mol/L 石炭酸）或过氧乙酸溶液（5 g/L）浸泡过夜或高压消毒，然后清洗干净，方可再用。

实验结束后，要用消毒液浸泡双手，然后用洗涤液和自来水冲洗干净。严禁将工作服或有关物品带入食堂，以免造成疾病的大面积传染。

（二）化学性危害的防护

使用强腐蚀性（如浓硫酸、硝酸、高氯酸、过氧化氢等）的化学试剂要做好防护，以避免溅到眼睛、皮肤和衣服上。使用有毒蒸气的化学试剂（如乙醚、苯、二甲苯、氯仿、氯、溴、汞和氰化物等）应在通风橱中进行操作。

严禁对着自己和他人开启易挥发性试剂的瓶塞。夏天或较高室温下开启瓶塞时，应先将试剂瓶冷却后再开启。在稀释浓硫酸时应将浓硫酸缓慢加入水中，切忌水往浓硫酸中加入，以防止硫酸溅出，腐蚀眼睛、皮肤或衣物。

吸量管取用液体化学试剂切不可用口吸取。使用橡胶吸球（洗耳球）吸取有毒或腐蚀性试剂时，应保持吸量管的尖部始终在试剂瓶内液面以下，防止吸空，将试剂吸入吸球内。如果不慎将试剂吸入吸球内，应立即洗净。

实验废液倒入下水道。含有强腐蚀性或有毒试剂的实验废液在倒入下水道之前，应按要求稀释或化学处理，倒入后用流水冲洗下水管道 3 min 以上，以防止下水管腐蚀或污染水源。

一旦皮肤或眼睛被强酸、强碱或腐蚀性物质灼伤应立即用大量自来水冲洗，并及时报告指导教师，进行适当处理和救治。

（三）触电的防护

各种电器（如分光光度计、离心机、电泳仪、电炉、电磁炉、恒温水浴箱、烘箱等）必须按规定使用，以防机壳带电。要及时清除电源插座、插头和开关附近的灰尘或污物，切不可用湿布擦除灰尘或用湿手开关电器设备。不得使用已知漏电的设备仪器。仪器使用完毕后，应及时切断电源。实验室人员应经常检查电源和线路，如有异常或损坏，应当及时报修。

一旦发生触电，首先应立即切断电源，切不可在未断电时直接用手拖、拉触电者，应当用绝缘物体（如木棒或塑料），将电源与触电者分开，然后根据具体情况实施救助。

（四）火灾的防护

实验室备有消防器材设备。首先，应学会灭火器的使用、各种物质着火时的扑救方法、了解火灾时的逃生路径和报警方式。

有机溶剂着火用湿布压盖，或用沙子或灭火器扑灭，不可用水扑灭。电器着火时，应当先切断电源，然后用沙子或四氯化碳扑灭，不可用水或二氧化碳灭火器；若衣服着火，切忌乱跑，可迅速就地滚动扑灭。

易燃易爆物品应在低温干燥环境下保存，不要放置在电器开关和发热设备附近，防止电路短路或接触不良产生电火花，引燃易燃物品。严禁用明火或电炉直接加热易燃易爆的有机溶剂（如氯仿、乙醚、丙酮、乙醇、苯等）。用火柴或纸条点燃酒精灯，切不可在酒精灯之间相互点火，以免酒精溢出酿成火灾。

一旦发生意外火灾事故，不要惊慌失措，应听从指导教师的指挥，若火势过大，应及时采取措施，迅速切断电源，组织逃生，立即报警，尽量减少和避免损失。

第二节 玻璃仪器的洗涤与干燥

玻璃器皿是生物化学检验工作中最常用的物品，种类很多，不同的玻璃器皿的洗涤与干燥方法各不相同。这里只介绍常用玻璃器皿的洗涤和干燥方法。

一、常用玻璃仪器的洗涤方法

用于生物化学检验实验的玻璃器皿，必须清洗干净，以免影响实验结果。洗净的玻璃器皿，其内外壁应当被水均匀润湿，不显水纹；水倒出后，不挂水珠。

（一）各种洗涤液及使用方法

1. 市售的洗涤剂（如洗衣粉或餐具洗涤剂）使用时可配制成 1%~2% 的水溶液，可用于大多数器皿的清洗。

2. 重铬酸钾洗液 利用重铬酸钾在强酸中的强氧化性发挥去污作用。重铬酸钾洗液的配制方法：称取重铬酸钾 50 g 加蒸馏水 50 ml 溶解后，再将 500 ml 浓硫酸，缓缓地加入，边加边小心搅拌，配好后冷却，装瓶加塞备用。

重铬酸钾洗液主要用于洗涤其他洗涤剂不易洗净的器皿或不宜用毛刷刷洗的器皿。洗液为强酸配制，腐蚀性强，使用时应特别注意防止灼伤。新配置的洗液为红褐色具有强氧化性，去污力强，当反复多次使用或遇水后，可变为深绿色，说明洗液已无氧化去污能力。使用重铬酸钾洗液时，应先干燥玻璃器皿，然后放入洗液浸泡，防止洗液遇水变绿失效。失效的洗液不可直接倒

入下水管道内，必须经过稀释或化学处理。

3. 氢氧化钾乙醇洗液 可用 10% 氢氧化钾与乙醇等体积混合后使用。适用于洗涤油脂或有机物污染的器皿。

4. 盐酸乙醇洗涤剂 可用 5% 盐酸溶液与乙醇等体积混合后使用。适用于浸泡或擦洗有色化合物污染的器皿。

5. 45% 尿素溶液 适用于洗涤蛋白质污物的器皿。

6. 二乙胺四乙酸二钠洗液 (5%~10% 水溶液) 利用其络合金属离子的能力清洁玻璃器皿上附着的重金属离子或钙、镁盐类化合物。

(二) 常用玻璃器皿的洗涤方法

洗涤是利用物理或化学的方法，除去器皿表面的污物，达到清洁目的的过程。根据不同的情况，应选用不同的洗涤方法。

1. 新玻璃器皿 清洗时应先在 2% 盐酸溶液中浸泡 2 h 以上，去除玻璃表面的游离碱，取出用自来水冲净，然后用合成洗涤剂刷洗，用自来水反复冲净，最后用蒸馏水淋洗 3 次即可。

2. 使用过的玻璃器皿 先用自来水冲掉附着物，再浸泡于合成洗涤剂中用毛刷刷洗，自来水冲净洗涤剂，最后用蒸馏水淋洗 3 次即可。

3. 患者标本污染的玻璃仪器 应先在 5 g/L 过氧乙酸溶液中浸泡过夜。取出用自来水冲洗，再用合成洗涤剂刷洗，自来水冲净，用蒸馏水淋洗 3 次即可。

4. 不能用毛刷刷洗的器皿 (如比色皿、容量瓶等) 洗涤时可先用氢氧化钾乙醇洗液或合成洗涤剂浸泡 (如有顽固污渍用重铬酸钾洗液浸泡)，然后用自来水冲净，最后用蒸馏水淋洗 3 次即可。

5. 被染色液沾染的玻璃器皿 如用清水不能洗脱时，可用盐酸乙醇洗液擦洗或浸泡，自来水冲净，最后用蒸馏水淋洗 3 次即可。

二、玻璃仪器的干燥方法

(一) 自然干燥法

将洗净的器皿，倒置在垫有干净纱布的柜橱内或专用架上，待其自然沥干。该方法适用于不急用或不能用高温烘烤的玻璃量器 (如量筒、容量瓶、吸管等)，是最常用的干燥方法。

(二) 烘烤干燥法

一般玻璃器皿 (如试管、烧杯、三角烧瓶等) 均可置 120~150 °C 烘箱中烤干。因高温会使玻璃器皿改变容积，会影响精密玻璃量器的精确度，故此方法一般不用于玻璃量器的干燥。若急用时可放置于 < 60 °C 的烘箱中干燥。一些厚壁玻璃器皿 (如研钵、量筒、标本缸等) 不宜高温烘烤，以防爆裂。

加热干燥完毕后，不能立即开烤箱取物品，必须关闭电源，待温度降至 50 °C 以下，再开门取物。否则玻璃器皿会因骤冷而爆裂。

第三节 试剂的种类、配制与保存

了解各种试剂的性质、使用原则和保管常识，掌握常用的试剂配制方法是生物化学检验技术

人员应具备的知识与技能。关于溶液的浓度及其计算方面的知识已在化学和分析化学课程介绍，本节不再赘述。

一、试剂的种类与保管

(一) 试剂的种类

临床生物化学检验工作中使用的试剂大致可分为：化学试剂、实验试剂和市售的商品试剂盒(kit)。

- 1. 化学试剂 市售化学试剂是纯度较高的化学制品，按其杂质含量不同，分成不同的等级。化学试剂相应的规格与标识见表 1-1。
- 2. 实验试剂 指实验室自配或装入试剂瓶中的各种试剂。
- 3. 商品试剂盒 指专业厂商生产的用于临床诊断试验的试剂组合。近年来，为了统一检验方法和便于开展实验室的质量控制，生产商规模化生产了种类齐全的各种商品试剂盒，供临床实验室使用。商品试剂盒有试纸条、冻干粉型、干粉型和液体型几种。目前市场上主要以液体双试剂型试剂盒为主。

表 1-1 国产化学试剂的规格与标识

级别	一级	二级	三级	四级	生物试剂*
中文标识	保证试剂	分析试剂	化学纯	化学用	
	优级纯	分析纯	化学纯	实验试剂	
缩写符号	GR	AR	CP	LR	BR
标签颜色	绿色	红色	蓝色	棕色等	黄色等
应用范围	用于精密科研	用于定性和定	用于一般工业	用于一般定性	用于生物化学分
	和配制标准液	量分析	分析及制备	分析	析及化学制备

注：生物试剂指用于生物学、医学、药学等学科科研和检验专用的试剂，包括氨基酸、糖类、酶、辅酶、蛋白质、核苷酸、脂质、植物碱、生物色素等几大类。

(二) 试剂的保管

- 1. 化学试剂应按照试剂类别分类存放，要将试剂统一编号、登记，并按顺序排列在试剂柜内的固定位置，以便随时取用和管理。试剂柜应放置在室内无阳光直射处，存放试剂的库房要求阴凉、通风、干燥。
- 2. 所有化学试剂使用后，必须将瓶塞盖紧以防潮解或者挥发；需要严格避光保存的试剂在棕色瓶外还包有一层黑纸，用时不要将黑纸袋剥去；塑料包装瓶上的瓶签容易脱落，在存放时应当用透明胶将其固定。
- 3. 易燃、易爆、易挥发和腐蚀性试剂使用后，除盖好瓶塞外，还应用胶带密封，防止挥发和泄漏；移动时应避免猛烈的震摇、撞击、受热和强烈摩擦。
- 4. 强酸、强碱试剂应当分开存放；剧毒品，应指定专人、专柜保管存放，每次使用前、后要如实记录试剂和试剂瓶的总重量、使用人和使用时间。
- 5. 生物试剂应根据要求放在避光、干燥的冰箱中低温保存。

6. 商品试剂盒应按说明书的要求，在冰箱中冷冻或冷藏保管，并注意保质期，经常检查是否变质或过期。

二、实验试剂的配制和使用

（一）实验试剂的配制

试剂配制不当将导致检验结果误差，影响工作质量。操作者要认真按照规程配制。

1. 以固体溶质配制试剂 一般采用称重法。首先用天平称取规定量的溶质（配制标准溶液时，应当用分析天平称重），放在洁净的烧杯中，加入适量溶剂将其溶解（如溶质难溶可适当加热助溶），待溶质完全溶解后（冷却至室温）倒入量筒或容量瓶中，加溶剂接近刻度，混匀，再加溶剂至刻度，混匀，移入试剂瓶中，盖好瓶塞，贴好标签备用。

2. 以液体溶质配制试剂 一般采用容量法。先取适量的溶剂（约为全部用量的一半）放入烧杯中，再量取规定量的溶质缓缓加入溶剂内，混匀，（如溶解产热，可边加边搅拌均匀，待冷却后）移入量筒或容量瓶中，加溶剂接近刻度，混匀，再加溶剂至刻度，混匀，移入试剂瓶中，盖好瓶塞，贴好标签备用。

3. 复溶冻干粉剂 使用冻干粉剂商品试剂盒要按照说明书，准确量取溶剂，直接注入装有冻干粉剂的试剂瓶内，盖上瓶塞，将其轻轻混匀复溶。应注意将残留在瓶盖上的试剂充分溶解混匀，以保证浓度的准确。

（二）实验试剂的使用

1. 液体试剂的取用

（1）用滴管移取试剂 应保持滴管垂直，防止液体流入乳胶头内污染试剂，滴加试剂时滴管的尖端应在被滴加液面的附近，缓缓将试剂滴入，避免试剂溅出。滴管的尖端不可接触容器的内壁或随意放在实验台上，以免被污染。取用试剂后应及时插入试剂瓶内。

（2）用吸量管（移液管）移取试剂 一般用右手持吸管，左手持洗耳球，保持吸量管垂直，插入试剂的中部（不得接触底部）吸取试剂，待吸量管内液面超过吸量刻度线时，用右手的食指压紧吸量管上口。吸取试剂时要防止试剂吸入洗耳球内。试剂转移至另一容器时，吸管尖应对着容器上口内壁，稍微松开右手食指，使溶液从吸量管尖部自然流出。当试剂残留在试管尖部不能自然流出时，应注意是否需要吹出（吸量管标有“吹”字样方可吹出，否则不可吹出）。

（3）用微量加样器移取试剂 使用方法见第三章。

（4）用量筒量取试剂 将量筒平放于桌面，右手握住试剂瓶，使试剂的标签朝上，以瓶口靠近量筒的上口，缓缓倒出所需液体，当液面接近量筒上所需刻度时，用洁净的滴管吸取少量试剂，加至所需刻度即可。在滴加时，应保持操作者的视线与量筒的刻度在同一水平位置上。

2. 固体试剂的取用 取试剂的药匙应当洁净干燥。称取固体试剂时，将试剂盛在洁净干燥的表面皿、纸片或塑料膜上，不可直接放在秤盘上。取用试剂后，切记将试剂瓶盖好放回原处，药匙应当洗净擦干放好。

3. 实验试剂使用的注意事项

（1）使用前要看清楚试剂的名称、浓度、配制日期，注意观察试剂的颜色、透明度、有无沉淀等，判定是否变质，变质的试剂不可使用。

（2）开启瓶塞后，瓶塞心朝上，不可与任何物品接触，更不可将瓶塞张冠李戴，以免污染试

剂。试剂取用后应立即盖好瓶盖，自配实验试剂要在瓶签上注明试剂名称、浓度和配制日期，试剂瓶要存放固定位置，使用后应放回原处。

(3) 吸取某种试剂的吸量管，如果经常使用，可将尖部插入一只干净的大试管中，试管上标明试剂的名称，并固定放在相应的试剂瓶的右侧，以免同组的其他同学拿错，造成试剂的交叉污染。

(4) 对要求低温存放的实验试剂，使用后应立即放回冰箱，以防室温中放置过久试剂变质。

三、诊断试剂盒的选择

(一) 试剂盒的选择方法

1. 选购试剂盒时，应认真阅读其使用说明书，了解测定原理、操作方法、技术要求、试剂的组成、试剂的有效期和储存条件等，判断是否适合本实验室使用。

2. 应注意搜集试剂盒生产商提供的相关资料，考察其生产许可文号和批准文号，辨别其真伪。

3. 检查外观，包装应当完整、封口严密，标签清晰。粉剂型试剂，应均匀无凝块，不粘附瓶壁。液体型试剂，应无沉淀，无混浊，无渗漏。冻干粉复溶后应均匀透明。

4. 对试剂盒的性能指标，实验室可用定值血清或患者混合血清进行初步评价试验，在充分调查和评价试验的基础上，货比三家，做出最佳选择。

(二) 试剂盒的性能指标

1. 准确性 一般用重复测定定值质控血清和回收试验进行考察。重复测定的结果应在 $\bar{x} \pm 2s$ 之内，回收率应在 $100\% \pm 5\%$ 之内。

2. 精密度 一般采用批内变异系数的指标来考察。要求最佳条件下批内变异系数： $CV < 5\%$ 。

3. 线性及线性范围 可采用线性拟合实验方法（参见第四章）评价。线性范围变窄则不可使用。

4. 空白吸光度 该项指标主要考查试剂盒中杂质污染情况。国家临床检验中心对试剂空白有要求，不符合要求说明试剂杂质过多或被污染，不能使用。

第四节 生物化学检验标本的采集与保存

正确采集、运送和保存标本是保证生物化学检验工作质量的前提。临床生物化学检验标本主要是血液、尿液和脑脊液以及其他体液（如胸腹腔积液、精液等）。

一、检验标本的种类

生物化学检验的标本（specimen），以血液最为常见，其次为尿液，其他标本（如脑脊液、胸腹腔液、消化液、羊水等）使用不多。

血液标本的种类可分为全血、血浆和血清。血清由非抗凝血制备，血浆由抗凝血制备。血清与血浆的主要区别是血清中不含纤维蛋白原，而其他成分无明显差异。全血与血浆的含水量不同，物质在血细胞内外分布不同，有些物质含量差异很大。因此，只有被检物质在红细胞内外含量相似时，才能用全血分析。目前，大多数临床生物化学检测项目很少用全血标本，多采用血清或血浆。又因为抗凝剂会干扰测定结果，尤其是测定酶活性或用酶试剂测定时影响更大。大多

数临床生物化学检测项目都尽量采用血清标本。

二、血液标本的采集与处理

(一) 采集前的准备

包括采集前受试者的准备、其他物品的准备和必要的核对等工作。

1. 采集前受试者的准备 许多因素影响血标本的成分变化,如年龄、性别、体位、运动、饮食、药物等(表1-2)。为了使检验结果能如实地反映受试者体内的实际情况,采血前必须耐心做好受试者的思想工作,告知受试者具体的准备事宜:

(1) 检查前要求受试者处于较好的休息状态,避免运动或过度兴奋等生理情况的影响。

(2) 必须空腹采血时,应当在餐后12h后(即早晨空腹)采血。要嘱咐受试者采血前不要进食、进水。

(3) 血脂检验项目,要求受试者连续1周正常普通饮食,空腹12~14h采血。

(4) 对检验结果有影响的药物,一般要求受试者停用2d后,才能采取标本。不能停药者,应加以注明。

表1-2 几种常见生理因素对血清成分含量的影响

被检物质	强烈运动		绝经期 增高/%	卧位变立位 平均增高/%
	增高/%	下降/%		
丙氨酸氨基转移酶(ALT)	41	—	7	12
天冬氨酸氨基转移酶(AST)	31	—	5	11
酸性磷酸酶(ACP)	11	—	—	—
碱性磷酸酶(ALP)	3	—	7	25
清蛋白(Alb)	—	—	9	2
总蛋白(TP)	3	—	—	0.7
甘油三酯(TG)	—	—	6	—
尿素(Urea)	3	—	—	—
肌酐(Cr)	17	—	—	—
尿酸(UA)	4	—	—	10
无机磷(P)	12	—	—	10

2. 采血前的准备 按试验项目的要求,认真核对受试者的姓名、编号及检验项目等,避免张冠李戴,同时也要警惕受试者冒名顶替。

用于采血的器材,应当严格遵守无菌操作的规定,使用一次性物品,采血针头要锐利无倒勾,准备好相应的标本容器(如试管、试剂瓶等)。根据试验项目的要求,选择不同的抗凝剂。

(二) 采集血标本的方法

1. 毛细血管采血 成人多用手指和耳垂,婴儿多用脚趾和足跟。应注意采血部位必须无水肿、炎症等异常现象。严格进行皮肤消毒。当血流不畅时切不可用力挤、捏,勉强采血。小儿末梢血采血深度不能超过2mm。当出血不止时,可用消毒干棉球压迫至血液不流出为止,必要时应在报告单上注明,提醒临床医生注意。

2. 静脉采血 通常采用肘前静脉,当时前静脉不明显时,可采用手背和踝部静脉,婴幼儿可

采用颈外静脉。应注意采血中严格无菌操作。

要注意避免造成标本溶血的错误操作，例如：采血器皿不干燥、止血带捆扎时间过长（最好在 2 min 内完成操作）、穿刺不顺利而过度损伤组织或血管、抽血速度过快、血液注入容器时忘记取下针头、注入血液过快产生大量泡沫、抗凝血混匀时剧烈震荡等。如果发现标本溶血，而无操作不当时，应在报告单上注明。

当肢体正在进行静脉输液时，不宜在同一静脉采集标本。

3. 动脉采血 采血部位多选择股动脉，其他动脉如桡动脉、肱动脉也可采用。新生儿一般通过插入脐动脉的导管采集脐动脉血，在血气分析测定时，按要求密闭采血，避免血液与空气接触，并尽快送检。

（三）血液标本的抗凝

某些检测项目需要用血浆标本时，要对所采集的血液进行抗凝。抗凝剂是能够阻止血液凝固的化学试剂。抗凝剂的种类很多，性质各异，适用于不同的检测项目。合适的抗凝剂应当是：溶解快，不影响检测结果。如果选择不当，将直接影响检测结果的准确性。常用的抗凝剂如下：

1. 草酸钾 草酸钾可与血液中的钙离子结合成草酸钙而阻止凝血。加入草酸钾可改变血液的 pH，并对乳酸脱氢酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和淀粉酶等有抑制作用。因此不适合血液气体、酸碱平衡和酶等项目的测定。抗凝用量是 2 mg/ml 血。

2. 氟化钠—草酸钾 氟离子能结合钙而抗凝。氟离子能抑制糖酵解途径中的烯醇化酶，阻止糖酵解，适用于血糖测定。但氟离子可抑制氨基转移酶、淀粉酶、碱性磷酸酶等活性，故不适用于酶活性的测定。

3. 肝素 肝素是一种糖氨聚糖（glycosaminoglycan）也叫黏多糖。肝素能抑制凝血酶原酶和凝血酶的形成和活性，阻止血小板聚集，抗凝能力强。适合血气分析和绝大多数生物化学检测项目的测定，但对酸性磷酸酶活性测定有干扰。抗凝用量是 1.0 g/L 肝素溶液 0.5 ml 可抗凝 5 ml 血液。

在对血标本进行抗凝处理时，不但要正确选用抗凝剂，还要注意血液与抗凝剂比例。

（四）血液标本的保存

血液标本采集后，必须及时送检，及时分离血清（浆），最迟不应超过 2 h，以防止红细胞内外物质交换，影响检测结果（如血清钾会升高，血糖会降低）。不能及时检测或需要保存的标本，根据检测项目不同，选择不同条件保存。保存标本的容器要具塞，以免水分蒸发而浓缩。

三、尿液标本的采集与处理

尿液标本分随机性一次新鲜尿、定时尿及 24 h 尿等。多数生物化学定量分析需收集 24 h 尿。采集尿液标本应注意避免容器污染，防止患者精液、前列腺液、月经血、阴道分泌物等污染。

（一）24 h 尿标本的收集方法

第一天嘱咐患者将尿排尽弃去，并记录排尿时间。以后每次排出的尿液，均收集于洁净、干燥、带盖的容器中。直至次日同一时间最后一次排尿为止混匀量取尿液总体积即为 24 h 尿。

（二）尿液标本的保存

尿液容易长细菌，会导致尿液中的成分发生变化，故收集 24 h 尿，应在收集第一次尿液时加入防腐剂。例如测定尿糖、胆红素、氨基酸等，可用 10% 麝香草酚异丙醇溶液（5 ml）但不适合

测定尿蛋白。如测定类固醇激素、肾上腺素、儿茶酚胺、钙等可用浓盐酸(1 ml/100 ml 尿)。收集的尿液应及时送检，若不能及时检测应将尿液混匀，记录体积，留取一部分，置冰箱 4~6℃保存。

四、其他标本的采集与处理

除血液和尿液的标本外，其他体液标本也常用于临床生物化学检测，其收集方法和注意事项可见表 1-3。

表 1-3 其他体液的检测项目、收集方法和注意事项

标本类型	测验项目	收集方法与注意事项
胸腹腔积液	蛋白质、葡萄糖、乳酸、酶(AMY、ALP、LDH、腺苷脱氨酶和溶菌酶)、氨	在无菌条件下对各积液部位进行穿刺收集 10~20 ml 至无菌容器内，并用 1/10 标本量 106 mmol/L 柠檬酸钠抗凝，立即送检。
脑脊液	蛋白质、Levinson 试验、葡萄糖、氯化物、酶(AST、ALT、LDH、CK)谷氨酰胺等	一般经腰穿获得，必要时可经池穿或侧脑室穿刺术，应尽量避免凝固和混入血液(可用 100 g/L EDTA 抗凝)立即送检(一般不超过 1 h)
唾液	尿素、肌酐、乙醇、汞、激素、电解质、清蛋白、酶(AMY、溶菌酶分泌型 IgA)、治疗药物检测	先嘱温水漱口，静止 5~10 min，用刺激或无刺激方法收集(方法不同，结果有差异)应防口服药残污染，经离心分离后取上清液分析
精液	精浆果糖、酶(α -葡糖苷酶、ACP、顶体酶、LDH 等)	用手淫法或电按摩法收集。收集前要禁欲 3~7 d，收集后在 25~35℃保温，送检不得超过 2 h
泪液	乳铁蛋白、溶菌酶、pH、LDH、MDH、分泌型 IgA	用毛细血管或滤纸片取样法收集非刺激泪标本

五、临床标本的生物安全处理

所有标本(包括质控血清)，均应视为具有传染性的物品，严禁直接接触操作者的口、皮肤或衣物，操作时应避免污染器皿的外部、操作台和水浴箱等。盛标本的容器在清洗前要消毒处理(可选用 5 g/L 过氧乙酸或 10 g/L 次氯酸钠浸泡 2 h 以上)，一次性尿杯、试管等容器使用后应随医院垃圾按照规定方式处理。

六、标本的转运

如果本院实验室无条件检测，需要转送上级医院或检验中心进行分析，应将标本盛在可以加塞或密封的试管中，再装入聚乙烯塑料袋内运输。如果短途则不必装入冰瓶，运输中应避免剧烈震荡。若长途运输，应置于冰瓶或冷藏箱内运输，内放冷却材料(如冰块或冰袋)，可保持温度在 0℃左右，一般化学成分在两日内变化不明显。如内装干冰，可达 -70℃左右，适合长途运输。

七、检验标本条码标识的应用

(一) 检验标本条码标识简介

条码(bar code)技术是借助计算机为信息管理系统，提供高效、可靠、低成本的自动识别和输入数据信息的技术。

检验标本条码标识系统是在生物化学检验中，将条码技术与自动生物化学分析仪上的中文信息管理系统结合起来，通过分析仪上的条码扫描器（bar code scanner）识读标本架和标本管上的条码，进行标本号、检测项目等信息的自动识别，实现从进样接收检测要求、自动分析和结果输出的全程自动化。

标本条码标识应用程序如下：

1. 编制实验项目组合 根据需要，预先在电脑上编制由不同项目组成的实验组合，例如肝功能、肾功能等，以便在打印条码时调用。

2. 打印条码 根据临床提出的检测要求，在不干胶纸上按顺序打印不同组合的条码。每份条码由并列两联所组成，正联为条码联，条码下有 10 个阿拉伯数字，第 1～3 位代表标本号，第 4～5 位代表实验组合号，第 6 位代表标本类型（如血清、尿液），第 7～8 位代表月份，第 9～10 位代表日期。副联有 3 位阿拉伯数字代表标本号，汉字代表组合名称。

3. 测试前的准备 收到标本后，根据检验单上申请项目，将相应条码的正联纵向贴在试管上，副联则贴在相应的检验单上。将贴有条码的试管放在专用试管架上，放入离心机（可自动平衡），用 3 000 r/min 离心 5 min。

4. 标本检测分析阶段 贴有条码的标本试管可根据实验室分析仪器的操作程序装载试剂、检测分析、打印检测报告。

（二）检验标本条码标识的优点

1. 有利于实现全自动操作 生物化学分析仪器能自动识别试剂和标本信息，自动按条码信息执行各种操作，免除了人工输入各种检测指令的过程，简化了工作程序，减轻了工作人员的劳动强度，使全自动分析成为现实。

2. 减少了人为误差 将采血（或其他标本）用原始试管贴上条码，离心后，即可直接放入仪器中测试。不必先离心出血清，再吸到样品杯中测试，避免弄错标本编号，以及不同标本间的相互污染等人造的差错。

3. 有利于运用计算机系统 增加了检测操作的灵活性，便于统计和长期保存检测资料、方便临床科室之间或医疗单位之间通过网络交流检测信息等。

第五节 诊断实验的参考值、医学决定水平与临床危急值

一、临床化学常规检验项目

随着医学的发展，用于诊断疾病和判断病情的检测方法不断涌现。各地疾病谱不同，各医院所采用的常规检验项目也各异。附录 1 中列出部分临床常规生物化学检验项目，仅供参考。

二、诊断实验的参考值

（一）参考值的概念

20 世纪 70 年代以前，以“正常值”来表示健康者的各种生理数据。1978 年国际临床化学联合会（IFCC），推荐使用“参考值”这一概念。参考值（reference value）是指从某一参考个体或参考人群中获得的测定数值。

根据标本来源不同，参考值分为个体基础参考值（即指以往参考个体在健康状态下获得的检测值）和群体基础参考值（即从一组参考人群中获得的测定值），后者即为通常所定义的参考值。

(二) 参考值范围的确定

参考值范围，一般定在 95%健康人群所分布的数值内为界（正态分布以 $\bar{x} \pm 2s$ 表示，非正态分布用百分位数表示）。

(三) 参考值的应用

临床用参考值判断检验结果，还应考虑临床实际应用情况：

1. 由于地域、性别、年龄等不同，同一检验项目的参考值可能不同。
2. 不能盲目将参考值范围作为正常与疾病的分界点。因为在健康与非健康个体之间，存在着重叠。患病机体并非都显示异常的实验结果。参考值范围仅覆盖被研究人群的 95%，有 5% 的正常人在参考值范围之外。另外，大多数疾病都有发生和发展的过程，早期诊断结果可能是阴性。所以将个体健康水平固定在某一范围，显然是不合理的。

三、诊断实验的医学决定水平

所谓医学决定水平（medical decision level）就是按照临床不同的病情，给予不同处理方式的指标或阈值。检查所得数据，若高于或低于某个医学决定水平时，医生应采取相应的对策。

一般来说，同一诊断试验可确定几个医学决定水平：① 提示需要进一步检查的阈值（相当于待诊值）；② 提示需要采取措施的阈值（相当于确诊值）；③ 提示预后或需要紧急处理的阈值（相当于临床危急值）。例如，血清钙的参考值定为 2.25~2.75 mmol/L，<1.75 mmol/L 可发生低血钙抽搐（此为血清钙的第一决定水平）；当血清钙浓度达 ≥ 2.78 mmol/L 时，应当加做其他试验项目，用于排除甲状旁腺机能亢进等疾病的鉴别诊断（此为第二决定性水平）；当血清钙浓度 > 3.38 mmol/L 时，可出现高血钙昏迷，应采取治疗措施（此为第三决定水平）。这三个决定性水平值，有两个不在参考值范围，一个为高水平，一个为低水平，都是提示临床上需要采取措施的阈值，临床意义较大。因此，对这些水平的诊断试验，要求有更好的准确度和精密度。

在质量控制工作中，质控血清中分析物的浓度，最好设在医学决定水平。在进行方法学评价时，最重要的是考察诊断试验在医学决定水平上的准确度和精密度，即在这些水平上的随机误差、比例误差和恒定误差。

Statland 提出了某些生物化学检验项目的医学决定水平（表 1-4），说明了医学决定水平与参考范围的关系。

表 1-4 某些生物化学检验项目的医学决定水平

成分(单位)	参考值	水平①	水平②	水平③
Na ⁺ (mmol/L)	138~146	115	135	150
K ⁺ (mmol/L)	3.7~5.3	3.0	5.8	7.5
Cl ⁻ (mmol/L)	98~109	90	112	—
TCO ₂ (mmol/L)	32~30	6.0	20	33
Ca (mmol/L)	2.25~2.65	1.75	2.75	3.38
Mg ²⁺ (mmol/L)	0.6~1.2	0.4	0.9	2.5
P (mmol/L)	0.81~1.62	0.5	0.8	1.7

续表

成分(单位)	参考值	水平①	水平②	水平③
BUN(mmol/L)	2.9~9.3	2	10	18
Cr(μ mol/L)	62~133	50	140	530
UA(mmol/L)	0.15~0.41	0.12	0.47	0.63
TC(mmol/L)	3.90~6.50	2.4	6.50	10.4
TG(mmol/L)	0.22~1.98	0.22	2.0	4.4
Glu(mmol/L)	3.30~5.23	2.48	6.6	10.0
Fe(μ mol/L)	9.0~29.5	7	40	70
Tbil(μ mol/L)	1.7~20.5	25	40	350
Alb(g/L)	35~50	20	35	52
TP(g/L)	60~80	45	60	80
ALP(U/L)小儿	50~350	50	135	400
ALT(U/L)	5~30	20	60	300
AST(U/L)	8~30	20	60	300
CK(U/L)	10~120	60	200	1500
LDH(U/L)	100~320	200	450	800
AMY(U/L)	110~330	90	225	370
γ -GT(U/L)	5~30	15	45	150

每项试验结果都有其参考值和医学决定水平，二者意义不同。不同试验项目的医学决定水平的制定，不但要根据健康人群的参考值，也要根据无关疾病患者的参考值及有关疾病患者分型、分期的测定值，同时还要考虑文献资料，还要听取具有丰富实验诊断经验的医生的意见。

四、诊断实验的临床危急值

(一) 临床危急值的概念

所谓‘临床危急值’(panic values 或 critical value)是提示即刻可能危及生命，需要立即采取临床干预的临床检测值。例如：成年血糖 $> 38.85 \text{ mmol/L}$ 或 $< 2.22 \text{ mmol/L}$ 时，若不加以临床干预，患者将昏迷或有生命危险。而血清钙 $> 3.4 \text{ mmol/L}$ 时，患者出现高血钙危象的可能性很大。血清钙 $< 1.75 \text{ mmol/L}$ 时，患者出现全身性痉挛的危险性极高。因此这两个试验数值，可以看作血钙的高、低危急值。

(二) 危急项目表及危急界限值

所有试验结果都具有特殊临床意义，但不是所有试验项目都需要制定危急值。事实上，大多数试验项目，即使其检测结果极不正常，也不表示患者处于生命危急的边缘。而对于某些试验项目(如血气分析、血钾、血钠、血镁、血葡萄糖等)其检测结果达到某种异常程度就表示即刻有生命危险，需要对患者进行紧急处理。这一类试验应当列入危急值试验项目。所以，临床医疗单位，应该制定一个危急试验项目及危急界限值表，便于应用(表 1-5)。

危急界限值与参考值是两个不同的概念，超过参考值并不一定就具有危急意义，不能将正常参考范围的上、下限数值作为危急界限值。

应当指出，危急值项目内的试验，即使出现异常结果也并不一定就表示有生命危险，它必须

达到一定的低限或高限数值才表示患者有生命危险，这个数值就是危急界限值。

有些危急值试验项目，有高、低两个危急界值（如血钾、血钠、血糖等），而有些试验项目，只有高限，没有低限（如血肌酐、胆红素等），或者只有低限，没有高限（如动脉血氧分压等）（表 1-5）。

表 1-5 某些危急值试验项目及界限值

试验项目	单位	低值	高值
pH	—	7.25	7.55
$p(\text{CO}_2)$	mmHg	20	—
$p(\text{O}_2)$	mmHg	45	—
HCO_3^-	mmol/L	10	40
K^+	mmol/L	2.8	6.2
Na^+	mmol/L	120	160
Glu	mmol/L	2.2	22.2
胆红素(新生儿)	$\mu\text{mol/L}$	—	307.8

危急值试验项目及危急界限值受多种因素影响。例如，患者的属性（年龄、性别、种族）；诊疗科室（门诊、急诊室、手术室、重症监护室、病房等）检测方法不同等，其危急值试验项目及危急界限值都会有所不同。因此，各临床医疗单位应制定适合于本部门应用的危急值试验项目及危急界限值，不能使用统一的危急项目表及危急界限值。

当试验结果数值为危急界限值时，检验人员应立即告知临床医生，以便尽快采取临床干预措施。

（三）制定试验危急界限值的质量管理规程

1. 建立有危急值的试验项目表。在临床检验项目中严格选择，将有危急值意义的试验项目包括在内。

2. 要把危急值与参考值区别开。有的实验室把正常参考范围的上下限作为其危急值的界限是错误的。

3. 建立起实验室人员处理、核实和报告危急值的制度，了解临床对患者处理情况的程序，有关人员都应按此程序办理。

4. 要建立有关危急值的资料保存制度。包括试验的结果，处理的记录，患者的资料，以及接受报告人的姓名，甚至患者病情的变化等，所有资料都应记录在内。

实验一 实验试剂的配制

【实验要求】

掌握实验试剂配置的基本操作和方法；了解实验室的一般规则和安全防护常识。

【实验用品】

1. 药物天平，药匙。
2. 量筒（100 ml）。

【实验内容】