

“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材配套教材

国家卫生和计划生育委员会“十二五”规划教材配套教材
全国高等医药教材建设研究会“十二五”规划教材配套教材

全国高等学校配套教材

供医学检验技术专业用

临床生物化学检验技术 实验指导

主 编 倪培华

副主编 赵云冬
梅传忠



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材配套教材

国家卫生和计划生育委员会“十二五”规划教材配套教材

全国高等医药教材建设研究会“十二五”规划教材配套教材

全国高等学校配套教材

供医学检验技术专业用

临床生物化学检验技术 实验指导

主 编 倪培华

副主编 赵云冬 梅传忠

编 者 (以姓氏笔画为序)

马建锋 (南京医科大学)

邢 艳 (川北医学院)

毕 瑩 (贵阳医学院)

刘忠民 (广州医科大学)

刘继英 (天津医科大学)

李 莉 (上海交通大学医学院)

李贵星 (四川大学华西临床医学院)

林孟戈 (福建医科大学)

赵云冬 (北京大学医学部)

段 勇 (昆明医科大学)

侯 敢 (广东医学院)

倪培华 (上海交通大学医学院)

浦 春 (皖南医学院)

梅传忠 (蚌埠医学院)

熊 燊 (海南医学院)

人民卫生出版社

图书在版编目(CIP)数据

临床生物化学检验技术实验指导/倪培华主编.—北京:
人民卫生出版社,2015

全国高等学校医学检验专业第六轮暨医学检验技术专业
第一轮规划教材配套教材

ISBN 978-7-117-20310-4

I. ①临… II. ①倪… III. ①生物化学-医学检验-医学
院校-教学参考资料 IV. ①R446.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 031674 号

人卫社官网	www.pmph.com	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	www.ipmph.com	医学考试辅导, 医学数 据库服务, 医学教育资 源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

临床生物化学检验技术实验指导

主 编: 倪培华

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 三河市尚艺印装有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 10

字 数: 250 千字

版 次: 2015 年 3 月第 1 版 2015 年 3 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-20310-4/R·20311

定 价: 23.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

前 言

《临床生物化学检验技术实验指导》是《临床生物化学检验技术》的配套实验教材,是在钱士匀教授主编《临床生物化学检验实验指导》(第4版)的基础上进行更名、修订和编写。本教材适用于医学检验技术专业四年制本科和成人教育本科学生的实验教学使用,教材中实验内容各院校可根据本校的实际情况选择开设。

本教材编写遵循医学检验技术专业培养目标,适应新世纪医学教育模式的要求,注重学生的基本知识、基本临床实践技能和初步科研能力的培养,同时体现简洁、实用的指导思想。教材内容符合面向社会需求的医学检验技术专业复合型人才基本要求。教材共分5章,计63个实验,每个实验包括实验原理、试剂与器材、操作、结果计算、参考区间、注意事项及思考题。

为强调学生综合能力和创新能力的培养提高,本教材增加了临床检验综合性/设计性实验内容和部分临床上新的、成熟实用的实验内容,同时改变了原按物质代谢和疾病种类编排模式,提出了以技术和能力培养为主线,构建了基本技能性、综合应用性和设计创新性模块,并整合了部分章节,缩减了编写篇幅。

本教材在编写思路、内容选择及编写过程中,得到全国高等学校医学检验技术专业教学教材建设指导委员会的支持和指导,同时得到医学检验界许多专家的指点和帮助,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技术教学和临床实践工作的教师共同编写,但由于医学检验学科发展迅速,内容涉及广泛,加之编者水平有限,有疏漏和不当之处,敬请各位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。

倪培华

2015年1月

目 录

第一章 临床生物化学检验实验室基本知识	1
第一节 实验室基本知识	1
一、临床生物化学实验室一般规则	1
二、临床生化检验的申请方式及检验流程	1
三、玻璃器皿的清洗、使用和校正	2
四、移液器的使用及校正	5
五、临床生物化学检验实验用水	6
六、临床生物化学检验实验室安全	8
第二节 临床生物化学检验实验报告的书写	9
一、实验报告的书写要求	9
二、实验报告的书写内容	10
第二章 临床生物化学检验基本技能实验	11
第一节 光谱分析技术	11
实验 1 721 型分光光度计性能检查	11
实验 2 血红蛋白及其衍生物吸收光谱分析	13
实验 3 荧光光度法测定 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶含量	14
实验 4 原子吸收光谱法测定血清锌含量	16
实验 5 双波长比色法测定茶碱	18
第二节 电泳技术	20
实验 6 醋酸纤维素薄膜电泳法测定血清蛋白质	20
实验 7 琼脂糖凝胶电泳法测定乳酸脱氢酶同工酶	23
实验 8 聚丙烯酰胺凝胶电泳法分离尿液蛋白质	25
实验 9 等电聚焦电泳分离血红蛋白	27
第三节 层析技术	28
实验 10 凝胶层析分离血红蛋白及鱼精蛋白	28
实验 11 亲和层析分离豌豆凝集素及鉴定	30
实验 12 DNS-氨基酸双向聚酰胺薄膜层析	31
实验 13 离子交换层析法分离混合氨基酸	32
实验 14 微柱法测定血清糖化血红蛋白	34
实验 15 凝集素亲和层析法测定骨型碱性磷酸酶	35

实验 16	高效液相色谱法同时测定血浆苯巴比妥、苯妥英及卡马西平	37
第四节	离心技术	38
实验 17	红细胞膜的制备	38
第五节	电化学技术	39
实验 18	离子选择性电极法测定血清钾、钠、氯、钙离子	39
实验 19	血气分析	41
第六节	免疫化学技术	44
实验 20	免疫透射比浊法测定 C-反应蛋白	44
实验 21	免疫透射比浊法测定脂蛋白(a)	45
实验 22	免疫透射比浊法测定血清胱抑素 C	47
实验 23	散射免疫比浊法测定血(尿) α_1 -微球蛋白	48
实验 24	透射免疫比浊法测定心肌肌红蛋白	49
实验 25	化学发光免疫法测定心肌肌钙蛋白 T	50
实验 26	化学发光酶免疫法测定地高辛	51
第三章	临床生物化学检验常规应用实验	53
第一节	化学法测定实验	53
实验 27	果糖胺法测定血清糖化白蛋白	53
实验 28	双缩脲法测定血清总蛋白	54
实验 29	溴甲酚绿法测定血清白蛋白	56
实验 30	改良 J-G 法测定总胆红素和结合胆红素	58
实验 31	碱性苦味酸法测定肌酐	60
实验 32	碘-淀粉比色法测定血清(浆)淀粉酶	62
实验 33	磷酸苯二钠比色法测定血清碱性磷酸酶	63
实验 34	甲基麝香草酚蓝比色法测定血清镁离子	65
第二节	酶促反应法测定实验	66
实验 35	葡萄糖氧化酶法测定血清(浆)葡萄糖	66
实验 36	磷酸甘油氧化酶法测定血清(浆)甘油三酯	68
实验 37	胆固醇氧化酶法测定血清(浆)总胆固醇	69
实验 38	磷钨酸-镁沉淀法测定血清高密度脂蛋白-胆固醇	71
实验 39	表面活性剂清除法测定血清低密度脂蛋白-胆固醇	72
实验 40	胆红素氧化酶法测定血清总胆红素和结合胆红素	74
实验 41	酶循环法测定血清总胆汁酸	75
实验 42	尿酸酶-过氧化物酶偶联法测定血清尿酸	77
实验 43	脲酶-谷氨酸脱氢酶偶联速率法测定血清尿素	78
实验 44	肌氨酸氧化酶法测定血清肌酐	80
第三节	连续监测法测定酶活性实验	81
实验 45	连续监测法测定血清丙氨酸氨基转移酶	81
实验 46	连续监测法测定血清碱性磷酸酶	83

第四章 临床生物化学检验综合应用实验	85
第一节 方法学评价实验	85
一、准确度的评价	85
实验 47 回收试验	85
实验 48 干扰试验	87
实验 49 方法比较试验	88
二、精密度的评价	91
实验 50 批内重复性试验	92
三、检测低限的评价	94
实验 51 检测低限试验	94
四、线性范围评价	95
实验 52 线性范围评价试验	95
第二节 临床生物化学检验仪器性能评价实验	97
实验 53 自动生化分析仪性能初步评价实验	97
实验 54 自动生化分析仪 340nm 波长实际 K 值测定	100
实验 55 自动生化分析仪时间反应曲线实验	102
第三节 临床生物化学检验质量控制	102
实验 56 室内质量控制实验	102
实验 57 室间质量评价实验	105
第五章 临床生物化学检验综合性/设计创新实验	108
实验 58 酶的分离纯化与酶动力学分析实验	110
实验 59 溶血、黄疸、脂血对血清肌酐测定的干扰评价	120
实验 60 糖尿病的实验诊断与鉴别诊断	125
实验 61 肾脏疾病诊断与鉴别诊断	131
实验 62 急性胰腺炎诊断与鉴别诊断	136
实验 63 急性心肌梗死的实验诊断与鉴别诊断	138
附录	142
附录 1 临床生物化学检验常用缓冲液的配制	142
附录 2 临床生物化学检验常用英文术语缩写	147
参考文献	152

第一节 实验室基本知识

一、临床生物化学实验室一般规则

1. 实验前必须预习实验指导和有关理论,明确实验目的、原理、预期的结果,操作关键步骤及注意事项。
2. 不得穿拖鞋、背心出入实验室。若必要时穿戴隔离衣。
3. 保持实验室安静,保持实验台整洁,无用的物品不要放在实验台上,试剂、仪器应整齐按次序放置。
4. 实验时要严肃认真,专心操作,爱护仪器,节约药品、试剂、蒸馏水、煤气、电等;贵重仪器,如生物化学分析仪、离心机等,使用前应熟悉使用方法,严禁随意开动;公用物品用毕后放回原处,不得私自占有。
5. 注意安全操作,避免事故。使用乙醚、苯、乙醇等易燃有机溶剂时,须远离火源,不许直接在电炉、酒精灯上加热。如有火险发生应先关电源。有机溶剂着火时,勿用水浇泼,以免扩大燃烧面积,可用砂土或灭火器灭之。凡强酸、强碱及有毒液体,勿用口吸,吸取此类物品的吸管等不准乱甩,以免伤人。试管内容物加热时管口不要对着人。
6. 注意观察实验过程中出现的现象和结果,应及时将实验结果如实记录下来,并请老师当场审核,结果不良时,必须重做。
7. 实验完毕,须将试剂瓶排列整齐,整理好公用物品;固体废物如滤纸、玻璃纸、棉花、血块等不要倒入水池,以免堵塞水管;一般废液可倒入水池冲走,但强酸、强碱溶液必须用水大量稀释以免腐蚀水管;按各类仪器的清洗方法和要求将其清洗干净并收好,擦净实验台,请指导老师检查允许后方可离开。
8. 实验结束后,根据实验结果进行科学分析与处理,按要求完成实验报告,并及时交老师审阅。

二、临床生化检验的申请方式及检验流程

(一) 临床生化检验的申请方式

检验申请单是医疗文件的重要组成部分,要求书写整洁、字迹清楚、术语确切、不得涂改。各项检查申请单由经治医师按规定逐项填写,眉栏项目不得遗漏,标明送检标本名称,送检标本上所贴号码应与申请单上的号码一致。申请单应书写临床诊断或初诊疾病名称、检查目的、申请日期、医师签全名或盖印章。急诊或需紧急检查项目,应在申请单右上角注明“急”字。对于电子检验申请单,经治医师同样需要认真、详细地填写上述相关信息。

(二) 临床生化检验的检验流程(以血清标本为例)

1. 接收标本。
2. 预处理阶段:在收到标本后,按照条码组合进行分类处理,离心分离血清并对号入座将血清吸入检测杯,或直接将样品管按顺序放入样品盘。
3. 血清标本上机分析:在进行患者标本的检测时,需同时检测室内质控物,单个项目和小组合先安排,大组合和生化全项后安排,如有急检标本放到急检位置优先检测。
4. 结果报告与审核校对:全自动生化分析仪每完成一个组合的测定即给出结果,其结果实时传送到电脑系统,通过在电脑屏幕上根据条码收费项目逐一审核后打印出检验报告。
5. 报告单发出生物化学室,送至检验分单处,并由专人发往各个病房和门诊化验单发放处。
6. 如果医生对患者结果有疑问和反馈意见时,生化室工作人员应及时处理,并可逐级报告给组长、科主任。

(三) 检验报告单的书写

1. 检验报告单应由主检化验员用蓝色或黑色圆珠笔填写(或打印),做到书写清晰。
2. 检验报告单格式应规范、统一,提供中文或中英文对照的检测项目名称,项目名称符合相关规定;采用国际单位或权威学术机构推荐单位,并提供参考范围。
3. 填写时应认真核对检验原始记录,做到数据完整准确,应包含充分的患者信息、标本类型、样本采集时间、结果报告时间等。
4. 检验报告单应有双签字(检验者和审核者)。

三、玻璃器皿的清洗、使用和校正

一个临床生化实验室,要保证检验结果有较好的准确性和较高的灵敏度,除检验人员应具备较好的基础理论知识和扎实的业务素质外,仪器和设备的完好状态、容量器皿的准确度和玻璃器材的清洁度都要达到一定的要求。一般实验要求玻璃器皿清洁透明,冲洗水沿器壁自然下流时不挂水珠,烘干后玻璃表面无可见的污渍。

(一) 玻璃器皿的清洗

1. 新购置的玻璃器皿 新购置的玻璃器皿常附着游离的碱性物质,可先用大小合适的毛刷,用肥皂水(或去污粉)洗刷内外面(内壁用旋转手法刷洗),用自来水冲洗至容器壁不挂水珠;再用1%~2%的盐酸浸泡4~6小时,除去游离碱,用流水冲洗干净;最后用蒸馏水冲洗2~3次,晾干或在烘箱内烘干备用。

2. 使用过的玻璃器皿的清洗 一般玻璃器皿如烧杯、试管、离心管等普通玻璃器皿可直接用大小合适的毛刷蘸洗衣粉刷洗,然后用流水冲洗,最后用蒸馏水漱洗2~3次,倒置控干即可。凡不能用毛刷刷洗的容量类玻璃器皿,如容量瓶、刻度吸管等,在使用后应立即用自来水冲洗数次(勿使物质干涸),再用蒸馏水冲洗2~3次晾干即可。如果仍然不干净,则须干燥后用铬酸洗液浸泡数小时,再用清水和蒸馏水冲洗。

传染性标本(如病毒、传染病患者的血清等)玷污过的器皿,应浸泡在杀菌剂(煤酚皂溶液或过氧乙酸等)中过夜,进行消毒后再清洗。

3. 比色皿 使用完毕立即用自来水反复冲洗干净,如有污物黏附冲洗不净时,可用盐酸或适当溶剂清洗。再用自来水反复冲洗干净,最后用蒸馏水冲洗干净,倒置于干净的滤纸上晾干备用。切忌用试管刷或粗糙的布或纸擦拭,以免损坏比色皿的透光度。应避免用较

强的碱或强氧化剂清洗。

4. 玻璃量器的特殊处理方法

(1) 被石蜡、凡士林或其他油脂类污染的玻璃量器要单独洗涤。洗涤前,首先去油脂(将量器倒放于具有强吸水力的几层厚纸上,置 100℃ 烤箱中烘烤半小时,使油脂熔化用厚纸吸收,再置碱性溶液中煮沸趁热洗刷,即可去除油脂),然后再按一般洗涤要求进行。

(2) 染料污染的玻璃量器,先用清水初步清洗,再置重铬酸清洁液或稀盐酸中浸泡可以除去;如使用 3% 盐酸乙醇溶液清洗,效果会更好。

(3) 盛过强酸、强碱及高浓度试剂的玻璃量器,倾去液体后,应先用自来水冲洗数次,再放在一起洗涤。

(4) 微量元素测定的一整套玻璃器皿应单独清洗,先以稀硝酸浸泡,再用去离子水冲洗。经过清洗之后的玻璃量器,其清洁与否的标志是当水面下降或上升时与器壁接触处形成正常的弯月面,水流出时器壁上无水珠附着。

5. 干燥 玻璃量器经洗涤清洁后,一般多放在晾架上倒挂自然干燥,也可置烤箱中 80℃ 以下烤干。

6. 几种洗涤液的配制和应用 根据实验目的不同,洗涤液的种类和配制方法及冲洗方法也不同。应根据玻璃器皿污染源的不同而选择合适的洗涤液。

(1) 重铬酸清洁液:配方有数种,可按需要选用,第三种配方的清洁能力最强(表 1-1)。

表 1-1 清洁液的配方

配方	1	2	3
重铬酸钾(g)	80	200	100
水(ml)	1000	500	200
粗浓硫酸(ml)	100	500	1000

配制时,先将重铬酸钾溶于热水(50℃ 左右)中,搅拌使其溶解,待冷后缓缓加入工业用浓硫酸,边加边搅拌,切勿过快,以免产生高热使容器破裂。切忌把重铬酸钾水溶液加入硫酸中。配制时,根据用量选用烧杯或耐酸陶瓷缸作为容器。

清洁液的腐蚀性强,用时注意不要溅在皮肤和衣服上,最好戴上防护眼镜。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。如果清洁液的颜色由棕黄色逐渐变为绿色,表示效力降低,应重新配制。

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。清洗时,将吸管、试管等玻璃器皿用耐酸塑料带扎紧后浸入,务必使管腔内注满清洁液。上述器皿浸泡时间应在 12 小时以上,然后取出,用流水冲洗干净,务必不要让酸液有残留。比色器皿不能刷洗,放在清洁液中浸泡 6 小时以上,清洁效果较好。

(2) 乙二胺四乙酸二钠洗液:使用 50 ~ 100g/L 乙二胺四乙酸二钠溶液,加热煮沸可洗脱玻璃仪器内壁之白色沉淀物(钙、镁盐类)和不易溶解的重金属盐类。

(3) 草酸洗液:可洗脱高锰酸钾之痕迹,如在草酸溶液中加入少量硫酸,则效果更佳。

(4) 硫代硫酸钠洗液:可除去碘液污染,稀酸性硫代硫酸钠溶液还可除去高锰酸钾污渍。应根据玻璃器皿污染源的不同而选择合适的洗涤液。

(二) 玻璃器皿的使用

1. 量筒 量筒不能用作反应容器,量筒的规格有 10ml、25ml、50ml、100ml、250ml、500ml、1000ml 等许多种,常用于不太精密的液体计量(量筒的测量误差约为其总容量的 ± 0.01)。因为量筒的底座与筒身是焊接在一起的,所以不能用来量取温度过高的液体,更不能直接加热。

2. 容量瓶 容量瓶主要是用于把精密称量的物质配制准确浓度的溶液,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。常用的容量瓶有 25ml、50ml、100ml、250ml、500ml、1000ml 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。用容量瓶配制溶液时,应先将固体试剂在烧杯中用溶剂溶解,再定量地转入容量瓶中,然后加溶剂稀释至标线。当溶剂加到快要接近标线时应停顿 30 秒左右,待瓶颈上部液体流下后,再小心地逐滴加入,直至溶液的弯月面最低点与标线相切;然后,反复倒转摇动,使溶液充分混匀。不许以任何形式对容量瓶加热;洗净后也不能放入烤箱中烘烤,否则可使其容积发生改变。

3. 有分度吸量管 有分度吸量管用于准确量取一定体积液体的玻璃量器。常用的有分度吸量管有 0.1ml、0.2ml、0.5ml、1ml、2ml、5ml、10ml 等规格。要根据需要吸取溶液的多少选择适当容量的吸量管,例如用 2ml 吸量管取用 0.1ml 溶液;或者需要 1ml 溶液用 0.5ml 吸量管吸取 2 次,均可扩大误差范围,影响实验结果。使用时应分清吸量管的类型,量入式为包含量吸量管,用 TC(to contain)表示;量出式为泻出量吸量管,用 TD(to deliver)表示。TC 吸量管使用时则需吹出最后的余滴;TD 吸量管使用时液体自然泻出后不吹,仅在管壁上停留数秒钟,使管内液体不再流出为止。

用吸量管移取溶液时,应规范操作,读数或放液时,吸量管则必须保持垂直。移取溶液时,用右手的大拇指和中指拿住管上方,环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 1cm 左右(以免外壁黏附太多的液体),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,略为放松示指,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),以干净滤纸片或纸巾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(放液时不可用吹气的方法加快流速),等待 10~15 秒后,拿出吸量管。

(三) 玻璃器皿的校正

将待校正的玻璃仪器清洗干净并干燥,准确称量其重量,然后加入蒸馏水或去离子水至刻度线,再称重,并测量此时水的温度。两次的重量差即为仪器中水的重量,再用该温度时水的密度(表 1-2)除水的重量,就可得到待校正玻璃仪器的容积,重复三次求平均值。如果实测值与标称值间的差值在允许偏差范围内,则可继续使用,否则将真实值记录在瓶壁上,以备计算时校正用。

表 1-2 不同温度时水的密度

温度(°C)	密度(g/ml)	温度(°C)	密度(g/ml)	温度(°C)	密度(g/ml)
10	0.99839	17	0.99765	24	0.99639
11	0.99831	18	0.99750	25	0.99618

续表

温度(℃)	密度(g/ml)	温度(℃)	密度(g/ml)	温度(℃)	密度(g/ml)
12	0.99823	19	0.99734	26	0.99594
13	0.99814	20	0.99718	27	0.99570
14	0.99804	21	0.99700	28	0.99545
15	0.99793	22	0.99680	29	0.99519
16	0.99780	23	0.99661	30	0.99492

四、移液器的使用及校正

移液器也叫加样器,为精密量器,具有使用方便、重复性好、残留液少等优点。移液器的移液量程一般在数微升至数毫升之间,常用的移液器规格有 $0.1 \sim 10\mu\text{l}$ 、 $1 \sim 100\mu\text{l}$ 、 $1 \sim 250\mu\text{l}$ 、 $1 \sim 1000\mu\text{l}$ 、 $1 \sim 5000\mu\text{l}$ 等许多种。移液器是利用活塞的定程运动形成的负压来完成整个吸液过程的,活塞移动的距离由调节轮控制螺杆机构实现,即活塞移动的距离就是设定的样品液量。移液器下段为可装卸可更换的吸液嘴,用移液器上方的“推进按钮”定量采取液体。移液器有固定式和可调式两种。移液器只能在特定的量程范围内使用,在使用可调式移液器时,需要用选择旋钮先将容量调至所需容量刻度上。

(一) 可调式移液器的使用

1. 用螺杆调整要求的容积,螺杆上刻痕对着本体上的刻线就是所需的容积。
2. 在移液器下端吸液杆上安装一个与吸取量匹配的吸液嘴,轻轻扭转使其套紧保证气密,以免液体漏出或取液不准。
3. 用拇指按移液器的按钮到感觉有阻力时保持不动,将移液器吸液嘴垂直浸入到样品液中 $1 \sim 3\text{mm}$ 深度。
4. 释放移液器的按钮,使之慢慢地回复,决不允许突然松开。
5. 移液器吸液嘴在样品液中停留 $1 \sim 2$ 秒,保证取样的应有容积全部吸入吸液嘴中。
6. 从样品液中撤回吸液嘴,目测吸入液体体积是否合理,注意不要有气泡,将沾在吸液嘴外表面的溶液用滤纸或纸巾仔细地擦掉,注意不要接触到吸液嘴孔。
7. 排出样品溶液时,吸液嘴对着接受容器的内侧面放置,成 $15^\circ \sim 20^\circ$ 角倾斜,将按钮向下按到第一静止点(第一挡位),停留 $1 \sim 2$ 秒,再将按钮向下按到第二静止点(第二挡位),排出尖头中的残液。以上动作需连贯一致,千万不可在排液时,将按钮按至第一挡就放松按钮,以避免加液不准。
8. 将吸液嘴沿着容器壁向上滑动,小心地从容器中撤回移液管。
9. 释放移液管的按钮,旋转螺杆其返回到最大刻度线位置,以免损坏弹簧。
10. 按动去头杆,去掉已用过的吸液嘴。

移液器使用时,应注意以下事项:①移液器是精密量器,应轻拿轻放。②使用时吸液嘴与吸液杆的连接必须匹配密合,避免将移液器直接与液体接触,防止液体直接进入吸液杆管腔腐蚀移液器内的器件。③吸液嘴在使用前须经湿化,即在正式吸液前将所吸溶液吸放 $2 \sim 3$ 次。湿化前后实际容量和排出量均有显著差异。④当加样器中有溶液时,不得倒放,必须垂直放置。⑤移液器每年应检验校准 $2 \sim 3$ 次,以保证加样的准确性。

(二) 可调式移液器的校正

移液器每年应检验校正 2~3 次,以保证加样的准确性。其校正方法如下:校正时要求室温 20℃,按正规操作吸取蒸馏水,并称其蒸馏水重量,同样记下蒸馏水重量及水温(也可用水银代替水);计算出容积及校正值,若相对百分误差大于 $\pm 2\%$ 时,应进行调整。调整后,必须再进行检测,直至加样器能正确给出调整的容积。

五、临床生物化学检验实验用水

水是实验室的一种基本试剂,仪器、玻璃器皿的洗涤,样品的稀释,试剂的配制等都需要用水处理,因此实验用水的质量与检验质量密切相关。

(一) 实验用纯水的制备方法

天然水中含有许多杂质,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。

1. 蒸馏法 蒸馏法制备纯水的原理是利用水与杂质的沸点不同,用蒸馏器蒸馏而得。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。蒸馏水是实验室中常用的较为纯净的洗涤剂和溶剂。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。

离子交换树脂是一种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。

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. 渗透法 电渗透法是将自来水通过电渗析器,除去水中阴、阳离子,实现净化的方法。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. 活性炭吸附法 活性炭吸附法是采用装有活性炭柱处理自来水,去除有机物的方法。其原理是利用活性炭过滤器的孔隙大小,以及有机物通过孔隙时的渗透率来达到去除有机物的目的。该法是各种制备纯水配套的一种措施。

5. 超滤膜法 超滤膜法是采用超滤膜去除供水中的悬浮物的方法,可截留大部分某种特定大小以上的分子,包括胶质、自由微生物和热源等;所得的水需进一步纯化。

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,其基本装置系用滤膜预处理系统的供水、结合炭吸附和离子交换处

理,最后以孔径 $0.45\mu\text{m}$ 的滤膜除去微生物。为了延长滤芯、反渗透膜、交换柱的使用寿命,一般以初级反渗透水作为水源,所制备的超纯水用于要求较高的试验,如精密仪器分析,标准品、基准试剂配制,组织细胞培养,分子生物学及生命科学研究等。

(二) 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、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cl^- 、 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)。电导仪表面头读数单位为 $\mu\text{S}/\text{cm}$, $1\mu\text{S}/\text{cm} = 1 \times 10^{-6}\text{S}/\text{cm}$ 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. pH 按照酸度计操作规程严格测定。

3. 可溶性硅检验 硅能影响酶和微量元素的测定及电解质分析。可溶性硅定性检测方法如下: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 H_2SO_4 3 份)8 滴,摇匀,置室温 10 分钟,滴加 1% 硫酸亚铁溶液 5 滴摇匀,以不显蓝色为合格($\leq 0.05\text{mg}/\text{L}$)。可溶性硅定量检测可采用原子吸收法进行检测。

4. 细菌菌落计数 通过常规菌落读数法进行检测,推荐平板法、过滤法和细菌采样法。

(三) 实验用纯水的质量要求与用途

实验用纯水并非不含任何杂质,因此不同制备方法获得的纯水质量直接影响所配试剂的质量,影响实验结果的准确度和精密度。2008 年,中国国家技术监督局根据国际标准化组织(International Organization for Standardization, ISO)ISO 3696:1987《分析实验室用水规格和试验方法》,修订我国《分析实验室用水规格和试验方法》(GB6682-2008)。该标准对我国分析实验室用水进行了规范,并将其分为三个级别(表 1-3)。

表 1-3 中国国家技术监督局 GB6682-92 标准

级别	I 级	II 级	III 级
pH(25℃)	—	—	5.0~7.5
电导率(25℃, mS/m)	≤ 0.01	≤ 0.10	≤ 0.50
比电阻(25℃, MΩ/cm)	≥ 10	≥ 1	≥ 0.2
可溶性硅(以 SiO_2 计, mg/L)	< 0.01	< 0.02	—
吸光度(254nm, 1cm 光程)	≤ 0.001	≤ 0.01	—
可氧化物质(以氧计, mg/L)	—	≤ 0.08	≤ 0.4
蒸发残渣(105℃ ± 2℃, mg/L)	—	≤ 1.0	≤ 2.0

1. 一级水(I 级水) 一级水可由二级水经过石英玻璃蒸馏水器或离子交换混合床处理后,再经 $0.45\mu\text{m}$ (或 $0.22\mu\text{m}$) 孔径的膜过滤来制备,基本去除了溶解或胶状的离子和有机污染物。一级水适用于最严格的分析需求如高压液相色谱分析、原子吸收光度法、火焰光度法、酶活性测定、电解质分析、血气分析、缓冲液及参比液的配制等。

2. 二级水(II 级水) 二级水可由多次蒸馏、离子交换或反渗透后连接蒸馏而成,无机物、有机物或胶体污染物含量非常低,适合于灵敏的分析。临床实验室大部分检测如生化、免疫、血液学、微生物检验等均使用二级水。

3. 三级水(Ⅲ级水) 三级水可由单级蒸馏、离子交换或反渗透制成。适用于玻璃器皿洗涤,要求不高的定性试验、尿液检验、组织切片、寄生虫检测、配制微生物培养基、高压灭菌等。

国内实验室用水通常可分为去离子水、蒸馏水(双蒸水)、超纯水三个级别。①蒸馏水:将水蒸馏、冷凝的水,经两次蒸馏的水称双蒸水,经三次蒸馏的水称三蒸水。水中可能含有与沸点相接近的物质,蒸馏法很难对其清除。一般试剂配制可用双蒸馏水。②去离子水:经过阴、阳离子交换柱去除杂质阴、阳离子。去离子水去掉的是离子化合物,没有离子化的有机物或微生物则不能被去除。一般的试验器皿器具的洗净用去离子水。③超纯水:通过数次高性能的离子交换树脂处理后经过微孔滤膜过滤,所得到水的电阻率可达 $18\text{M}\Omega/\text{cm}$,接近理论纯水的 $18.3\text{M}\Omega/\text{cm}$ 超纯水既无离子也无微生物,可用于分子克隆、DNA测序、细胞培养等各种精细实验。

(四) 实验用纯水的储存方法

在实际工作中,还应重视纯水的贮存、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,实验室用水应该标明启用时间,长时间贮存可使水质下降;一级水需在使用前制备,不可贮存。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;对制水设备的使用、维护及每日水质监控记录应严格管理。

六、临床生物化学检验实验室安全

临床生物化学实验室的特殊环境使得操作者经常面临一些安全隐患,包括各种污染和操作风险。例如在实验操作中常常使用易碎的玻璃器材和瓷质器皿,会用到煤气、电等高温电热设备,经常直接或间接地接触毒性很强、或有腐蚀性、或易燃易爆的化学药品和各种生物样品,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。实验室的主要危害源有生物、化学、物理三大类,实验室安全防护主要涉及生物安全、化学安全和消防安全等。

(一) 生物安全

所谓生物危险是指暴露于危险性微生物的机会。生物安全贯穿于实验的整个过程,从取样开始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。

实验所用来自临床的标本是潜在的生物传染源,包括病毒、细菌等病原微生物对实验室人员的感染和周围环境的污染。临床生物化学检验常用的人体标本有血液、尿液、胸腔积液、腹水和脑脊液等,其中以血液标本最为常用。

血液成分受饮食、情绪、运动和体位等因素的影响,一般应在安静、空腹状态下采集血液标本。在标本采集前应根据实验目的、方法和要求选择合适的标本类型和抗凝剂,决定采血方法和采血量。采血用注射器、棉球等物品应放置在指定的容器内,切勿随意丢弃。

标本保存与处理方法是否适当,直接关系到检验结果的准确性和对环境的影响。如果标本不能立即测定,应选择适当的保存方法。实验过程中应使用指定的容器存放标本,严防污染,避免身体接触。如不慎玷污皮肤、衣物或实验台面,应及时清洗和消毒。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,并用消毒液浸泡、流水冲洗双手。

其他感染性废物和器材应放置在指定的容器内,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。

(二) 化学安全

临床生物化学检验实验过程中,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,必须戴防酸手套小心地操作,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,要先用大量的自来水冲洗,再用2%或5%的乙酸溶液涂洗。强酸、溴等触及皮肤而致灼伤时,立即用大量的自来水冲洗,再以5%的碳酸氢钠溶液或5%的氢氧化铵溶液洗涤。酚类触及皮肤引起灼伤时,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,特别是使用易燃物(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的容器内,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。

(三) 消防安全

1. 首次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。
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. 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,然后再倒入有塞子的玻璃瓶中。
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。

实验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。

第二节 临床生物化学检验实验报告的书写

临床生物化学检验是一门实践性很强的学科,通过实验课使学生掌握临床生物化学检验技能,培养学生动手能力、观察能力、分析问题解决问题的能力,巩固和深化所学的基础和临床知识。

一、实验报告的书写要求

实验是在理论指导下的科学实践,目的在于经过实践,掌握科学观察的基本方法和技能,培养学生的科学思维、分析判断和解决实际问题的能力,也是培养探求真知、尊重科学事实和真理的学风,以及培养科学态度的重要环节。为此,要求学生在实验之前必须预习、理解基本原理和实验基本操作步骤,注意事项,列出所需试剂和仪器,实验中组织安排好时间,严肃认真地进行操作,细致地观察变化,如实地做好记录、书写实验报告等。实验结束后,应及时整理和总结实验结果及记录,并将实验的全部过程、实验结果及对实验结果的分析 and 总结写成文字材料,这就构成了实验报告。

实验报告在写作上应具有正确性、客观性、公正性、确证性和可读性等五个特点。在正确性方面,要求实验报告的实验原理、方法、数据及结论均是准确无误的,同时要求实验报告的表述也是准确无误的。在客观性方面,要求实验人员抱着客观的态度观察并及时地记录实验现象、结果和数据,原始记录必须准确简洁、清楚;而且在写作时也要客观、忠实地报告实验结果。在公正性方面,要求实验人员在描述实验和报告实验结论时不能带有任何偏见。在确证性方面,要求在实验报告中提到的实验结果是要能被证实的,不但要经得起自己的重复和验证,而且要经得起任何人的重复和验证。在可读性方面,实验报告的写作应符合语法的规范要求,并具有简洁、明晰、通俗、流畅的写作风格。

二、实验报告的书写内容

一般情况下,实验报告的书写应包括如下内容:

1. 实验名称、实验日期和实验目的 明确实验课要达到的目的,使实验在明确的目的指引下进行。
2. 实验原理 学生在老师讲解的基础上,按自己的理解,可用简明扼要的文字、框图或化学反应式将实验原理表述出来。它是学生反复理解思考得出的,是经过再加工的原理,而不是机械的照抄。
3. 主要试剂 写出主要或关键的试剂名称、成分及其作用。主要试剂是指直接与原理有关的或直接影响实验成败的试剂。促使学生去思考试剂的作用,有助于认识和理解实验的原理和特点。
4. 操作步骤 根据具体的实验写出主要的实验条件和操作步骤,或流程图或工作表。进一步回顾实验的全过程,有助于学生理解实验的设计和每一步的目的意义。
5. 实验记录 正确及时地记录原始数据和观察到的现象,不得涂改,培养学生实事求是、严谨的工作作风和良好的工作习惯。
6. 结果计算 列出计算公式,并代入原始数据进行计算,加深对公式的理解和应用,要求学生不但对检验过程和结果要知其然,还要知其所以然。
7. 结果报告 应根据实验的要求,把所得的实验结果和数据进行整理、归纳、分析和对比,尽量总结成各种图表,并按正规的临床检验结果报告方式发出报告,同时注明正常的参考值范围。
8. 临床意义 简要说明该项目的异常主要见于哪些生理和病理情况。
9. 讨论和体会 该部分是学生回顾、反思、总结、归纳所学知识的过程,应针对实验结果进行必要的说明和分析。讨论部分不是对结果的重述,而是对实验方法、实验结果和异常现象进行探讨和评论,以及对于实验设计的认识、体会和建议。学生可自由发挥,围绕实验相关问题进行表述,如你对本次实验结果是否满意,为什么;对不满意的结果,你认为是由什么原因造成的,今后如何改进;你认为影响本次实验成败的关键是什么;等等。即使得出的结果不理想,也可通过分析讨论,找出原因和解决的办法。

(梅传忠)