

医学检验专业必修课考试辅导教材

供医学检验专业用

梳理教材知识体系 精讲重点难点考点 揭示名校命题规律

# 临床生物化学和 生物化学检验

李萍主编



 科学技术文献出版社

医学检验专业必修课考试辅导教材  
供医学检验专业用

# 临床生物化学和 生物化学检验

主 编 李 萍

编 者 (以姓氏笔画为序)

王忠永(温州医学院)

邱 玲(北京协和医科大学协和医院)

李 萍(四川大学华西医院)

李贵星(四川大学华西医院)

宋昊岚(四川大学华西医院)

陈晓嘉(成都中医药大学)

张 璘(北京大学人民医院)

罗通行(四川大学华西医院)

周 君(四川大学华西医院)

胥 劲(四川大学华西医院)

赵 莹(浙江大学医学院第一附属医院)

贾成瑶(四川大学华西医院)

徐克和(四川大学华西医院)

黄亨建(四川大学华西医院)

彭志英(四川大学华西医院)

科学技术文献出版社

Scientific and Technical Documents Publishing House

北 京

**图书在版编目(CIP)数据**

临床生物化学和生物化学检验/李萍主编. -北京:科学技术文献出版社,2007.7

(医学检验专业必修课考试辅导教材)

ISBN 978-7-5023-5666-8

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

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 057006 号

出 版 者 科学技术文献出版社  
地 址 北京市复兴路 15 号(中央电视台西侧)/100038  
图书编务部电话 (010)51501739  
图书发行部电话 (010)51501720,(010)68514035(传真)  
邮 购 部 电 话 (010)51501729  
网 址 <http://www.stdph.com>  
E-mail: stdph@istic.ac.cn  
策 划 编 辑 薛士滨  
责 任 编 辑 薛士滨  
责 任 校 对 唐 炜  
责 任 出 版 王杰馨  
发 行 者 科学技术文献出版社发行 全国各地新华书店经销  
印 刷 者 北京高迪印刷有限公司  
版 ( 印 ) 次 2007 年 7 月第 1 版第 1 次印刷  
开 本 787×1092 16 开  
字 数 464 千  
印 张 16  
印 数 1~6000 册  
定 价 24.00 元

© 版权所有 违法必究

购买本社图书,凡字迹不清、缺页、倒页、脱页者,本社发行部负责调换。

(京)新登字 130 号

## 内 容 简 介

《临床生物化学和生物化学检验》是医学检验专业的主干课程。为配合该门课程的学习,特编写此书。该书以本科教材为蓝本,在每一章提出了学习要求、内容提要 and 复习测试。其目的是帮助读者归纳总结和掌握要点,并自我检查学习和掌握情况。该书除了可用于医学检验专业本/专科生的学习辅导外,还可供从事医学检验专业工作人员学习参考。

---

科学技术文献出版社是国家科学技术部系统唯一一家中央级综合性科技出版机构,我们所有的努力都是为了使您增长知识和才干。



# 目 录

第一章 绪 论	(1)
第二章 临床生物化学实验室基本技术与管理	(4)
第三章 血浆蛋白质以及非蛋白含氮化合物的代谢紊乱	(18)
第四章 糖代谢紊乱	(31)
第五章 血浆脂蛋白及其代谢紊乱	(45)
第六章 诊断酶学	(57)
第七章 微量元素与维生素的代谢紊乱	(78)
第八章 体液平衡与酸碱平衡紊乱	(92)
第九章 肝胆疾病的生物化学诊断	(106)
第十章 肾脏疾病的生物化学诊断	(125)
第十一章 心脏疾病的生物化学标志物	(140)
第十二章 胃肠胰疾病的临床生物化学	(150)
第十三章 骨代谢异常的生物化学诊断	(164)
第十四章 红细胞代谢紊乱	(175)
第十五章 内分泌疾病的生物化学诊断	(186)
第十六章 神经、精神疾病的生物化学	(200)
第十七章 妊娠的临床生物化学	(210)
第十八章 体液肿瘤标志物	(220)
第十九章 治疗药物浓度监测	(231)
第二十章 自动生物化学分析仪的应用与原理	(241)

# 第一章

## 绪论

### 第一节 学习要求

1. 什么是临床生物化学?
2. 临床生物化学的研究内容是什么?
3. 临床生物化学的作用是什么?

### 第二节 内容提要

#### 一、临床生物化学的领域

##### (一)临床生化的概念

临床生化(clinical biochemistry)是一门理论和实践性较强的应用性学科,它是**以生物化学、分析化学和临床医学知识为主要基础,采用分析化学、分析仪器学、免疫化学、分子生物学等技术和方法研究器官、组织、人体体液的化学组成和进行的生物化学过程,以及疾病、药物对这些过程的影响.为疾病的诊断、病情监测、药物疗效观察、预后判断和疾病预防等提供信息和理论依据.**

##### (二)临床生化的领域

1. 阐述有关疾病的生物化学基础和疾病发生发展过程中的生物化学变化,从生物化学代谢和分子水平上,认识疾病发病机制。该部分内容又称为**化学病理学(chemical pathology)**。
2. 开发应用临床生物化学检验方法和技术,对检验结果的数据及其临床意义作出评价,用以帮助临床诊断以及采取适宜的治疗。这部分内容有两方面的侧重点:在阐明疾病生化诊断的原理和对检验结果进行解释方面,侧重于论述疾病发生的生化机制,接近化学病理学的范畴,称为**化学病理学(chemical pathology)**;而在技术方法的开发应用方面,偏重于临床生物化学在实验室的应用,又称为**临床化学(clinical chemistry)**,其中一部分内容又称为**诊断生物化学(diagnostic clinical chemistry)**。
3. 对临床生物化学检验方法和技术进行评价和控制,其中包括方法选择、评价和质量控制,以保证临床生化检验结果的质量。

#### 二、临床生物化学发展简史

临床生物化学是由生物化学、分析化学、临床医学等学科交叉渗透逐渐形成的一门独立学科。

1. “临床化学”一词在第二次世界大战后、20世纪50年代开始较广泛地使用,1918年,Lichtwitz首先采用“临床化学”作为教科书名出版,1931年,Peter及Van Slyke又出版了两卷以《临床化学》为名的专著,第一次概括了这一领域的主要内容,它标志着这一学科的初步形成。
2. 19世纪以来体液生物化学组分的分析应用及“细胞内环境相对稳定”概念应用到临床生化领域,开创了体液水、电解质与酸碱平衡理论与实践在临床诊断和治疗中的应用。
3. 自20世纪50年代以来,分光技术、离心技术、层析技术、电泳技术等分析技术大大推动了该学科的发展。20世纪20年代以后,血清酶活力测定可作为细胞和组织损伤的重要标志。



4. 近 20 年来,自动化装置与电子计算机数据处理系统不断用于临床生物化学领域,大大提高了检测的准确性和及时性。

### 三、临床生物化学的现状及其作用

#### (一)临床生物化学的现状

随着科学技术、生物化学和检验医学的发展,特别是近 30 年来由于电子技术、计算机、生物工程、分子生物学等的飞速发展,使得临床化学检验也有了长足的进步,具体表现在以下几方面:

1. 在技术方面达到了微量、自动化、高精度和准确性,并且检测速度快,检测容量大。
2. 在内容方面能检测人体血液、尿液、各种体液成分,包括了糖、蛋白质(包括常量和特种微量蛋白)、脂肪、酶、电解质、微量元素、内分泌激素、药物、毒物,以及肝脏、肾脏、心脏、胰腺等各器官功能的检查,检验项目达上千种之多。

#### (二)临床生物化学的作用

1. 探讨疾病的发病机制,阐述有关疾病的生物化学基础和疾病发生发展过程中的生物化学变化。
2. 协助临床疾病诊断和治疗,开发应用临床生物化学检验方法和技术,对检验结果的数据及其临床意义作出评价,用以帮助临床诊断以及采取适宜的治疗。临床生化检验和实验室数据主要用于:揭示疾病基本原因和机制;根据发病机制,建议合理的治疗;诊断特异性疾病;为某些疾病的早期诊断提供筛选实验;监测病情;治疗药物监测;疗效评价;遗传病产前诊断。
3. 完善医学教育,将生物化学和临床医学交互渗透、相互影响对于疾病诊断和治疗的作用深入到医学教育中。

## 第三节 复习测试

### 一、名词解释

1. clinical biochemistry 2. 化学病理学 3. 临床化学

### 二、选择题

#### A 型题

1. 在临床生化领域中侧重于开发应用临床生物化学检验方法和技术、临床生物化学实验室应用的分支称为:

- A. 临床生物化学 B. 化学病理学 C. 临床化学 D. 分析化学

2. 在临床生物化学领域中侧重于疾病的生物化学基础和疾病发生发展过程中的生物化学变化研究的分支称为:

- A. clinical biochemistry B. diagnostic clinical chemistry C. clinical chemistry D. chemical pathology

3. 下列属于临床生物化学范畴的是:

- A. 疾病发生时体液组成成分的变化 B. 疾病发生时细胞内的物质的变化 C. 疾病发生时组织形态学的变化 D. 疾病发生时组织内物质的变化

#### X 型题

4. 临床生物化学为下列哪些医疗方面提供信息和理论依据:

- A. 疾病诊断 B. 病情监测 C. 药物疗效 D. 预后判断 E. 疾病预防

5. 临床生物化学的研究范围包括:

A. 阐述疾病的生物化学基础 B. 阐述疾病发展过程中的生物化学变化 C. 开发临床生物化学检验方法 D. 开发临床生物化学检验技术 E. 以上均是



### 三、简答题

简述临床生物化学的研究领域。

## 第四节 参考答案

### 一、名词解释

1. 临床生物化学是研究器官、组织、人体体液的化学组成和进行着的生物化学过程以及疾病、药物对这些过程的影响,为疾病的诊断、病情监测、药物疗效观察、预后判断和疾病预防等提供信息和理论依据。

2. 化学病理学是临床生物化学的一个分支,主要是阐述有关疾病的生物化学基础和疾病发生发展过程中的生物化学变化。

3. 临床化学是临床生物化学的一个分支,开发应用临床生物化学检验方法和技术,对检验结果的数据及其临床意义作出评价,用以帮助临床诊断以及采取适宜的治疗。

### 二、选择题

1. C 2. D 3. A 4. ABCDE 5. E

### 三、简答题

临床生物化学的研究领域包括:

(1)阐述有关疾病的生物化学基础和疾病发生发展过程中的生物化学变化。这部分内容又称之为化学病理学。

(2)开发应用临床生物化学检验方法和技术,对检验结果的数据及其临床意义作出评价,用以帮助临床诊断以及采取适宜的治疗。这部分内容有两方面的侧重点:在阐明疾病生化诊断的原理方面,侧重于论述疾病的生化机制,比较接近化学病理学的范畴;而在技术方法的开发应用方面,偏重于临床生物化学实验室的应用,称为临床化学,其中一部分内容又称为诊断生物化学

(3)对临床生物化学检验方法和技术进行评价和控制,其中包括方法选择、评价和质量控制,以保证临床生化检验结果的质量。

(李 萍)



# 临床生物化学实验室 基本技术与管理

---

## 第一节 学习要求

### 一、常用临床生物化学分析技术

1. 常用的光谱分析技术有哪些？
2. 吸收光谱、发射光谱和散射光谱有哪些异同？

### 二、常用免疫分析技术

常用的免疫分析技术和各自的特点有哪些？

### 三、生物芯片和生物传感技术

生物芯片和生物传感技术的原理是什么？

### 四、酶蛋白分离纯化技术

酶蛋白分离的目的是什么？有哪些主要技术？

### 五、临床生物化学的实验标本

1. 临床生物化学常用的实验标本有哪些？
2. 影响血液标本成分变化的非病理因素主要有哪些？

### 六、临床生物化学实验方法的选择与评价

1. 实验方法分为几级？各级方法的特点和应用是什么？
2. 标准品分为几级？各级标准品的特点和应用是什么？
3. 方法选择的步骤是什么？
4. 准确度的评价试验有哪些？
5. 什么是总允许误差？

### 七、临床生物化学检验全面质量控制

1. 全面质量控制主要包含哪些内容？
2. 室内质量控制和室间质量评价的定义和目的是什么？
3. 稳定性较长控制品的中心线和控制限是如何确定的？
4. 常用的室内质控规则有哪些？其意义是什么？



## 第二节 内容提要

### 一、常用临床生物化学分析技术

#### (一) 光谱分析技术

利用各种化学物质所具有的发射、吸收或散射光光谱谱系的特征,来确定其性质、含量或结构的技术称光谱分析技术。

##### 1. 吸收光谱分析法

(1) 基本原理和方法:同一物质对不同波长的光吸收程度不同,溶液所呈现的颜色是它所吸收光的互补色。在比色分析时,不同颜色的待测溶液,应选择不同颜色的单色光,其原则是两种颜色互为补色,以波长为横坐标,吸光度为纵坐标,即可得到波长和吸光度的关系曲线即光谱吸收曲线,在最大吸收时可排除有关物质的干扰。吸收光谱分析法是临床生化检验中应用最广泛的一类分析技术,常见的有可见光及紫外分光光度法、原子吸收分光光度法。其特点:灵敏度高、检测浓度在  $10^{-5} \sim 10^{-2}$  mol/L 范围、操作简便快速、选择性好和应用范围广。紫外分光光度法还具备无需显色等优点。

原子吸收分光光度法是利用火焰或无火焰方法使待测元素转化成蒸汽状态,由空心阴极灯发射的一定波长的共振线通过该元素蒸汽时强度减弱,其减弱程度与待测元素浓度呈正比,该法是微量元素检测中十分有效的方法之一。该法的优点在于:原子谱线简单,不同元素重叠度小,故特异性强;可用于多种金属元素测定;信号强度受温度影响较小;敏感性高,简便、快速、准确。但由于分析条件要求高等缺陷,在临床实验室较少用,常在参考实验室被应用。

##### (2) 紫外吸收光谱分析法和原子吸收光谱分析法的比较

1) 紫外吸收光谱分析法是测定分子对光吸收的程度,原子吸收光谱分析法是测定原子对光吸收的程度。

2) 分子对光的吸收一般为带状吸收,所吸收光的波长一般为  $10 \sim 40$  nm,原子对光的吸收一般为线状吸收,所吸收的波长一般为  $0.01 \sim 0.001$  nm

3) 原子吸收光谱分析法不及紫外吸收光谱法简单,测定不同的元素,需要换不同的空心阴极灯。

##### (3) 影响光谱吸收曲线和比色线性的因素

1) 单色光纯度:单色光纯度是衡量分光光度计先进性的重要指标。单色光纯度越低,线性越差。

2) 浓度:当待测物质浓度超过一定范围,溶液浓度和吸光度不呈正比。

3) 杂光、杂散光、散射光、反射光和非平行光等也可以影响吸收曲线的线性。

4) 其他:pH、溶剂和温度等可影响化学平衡,有色物质解离等。

2. 发射光谱分析法 待测物质分子成为激发态时所吸收的光称为激发光,处于激发态的分子回到基态时所产生的荧光称为发射光。

(1) 荧光分析法:荧光法(fluorimetry)的测定是受光激发后所发射的荧光的强度,凡能产生荧光的化合物,均可采用荧光分析法进行定性或定量。

荧光分析法的优点:①灵敏度高:比分光光度法敏感  $10^3 \sim 10^4$  倍;②特异性强:因为受激发光谱和发射光谱的双重控制;③操作简便、快速。

荧光分析法的缺点:荧光强度易受温度和激发光强度的影响,因此要严格控制操作条件。

(2) 火焰光度法:火焰使待测元素激发,当由激发态回到基态时发射出一定波长的光,强度与待测离子浓度呈正比。但是操作复杂、干扰因素多,已被离子选择电极法取代。

3. 散射光谱分析方法 散射光谱分析法主要测定光线通过溶液混悬颗粒后的光吸收或光散射程度的一类定量方法。根据检测仪器和方法的不同,可分为透射比浊法和散射比浊法两种。散射比浊法是利用光线通过悬浮液体或胶体溶液时,由于颗粒的散射而使人射光减弱,根据光线减弱的程度



测定溶液中颗粒的浓度。

但比浊法的缺点在于颗粒的大小和形状及悬液的稳定性对比浊结果有较大的影响,因此在比浊法中力求做到:①混悬液中微粒的分散度应尽可能相同,并易重复,标准管和测定管中的颗粒大小应力求一致;②混浊液在一定时间内(至少 10 min 内)应维持稳定,不易相互聚集,变粗变大。

此外,比浊分析时测定波长越短越敏感,但原则上应选择待测粒子高吸收而介质低吸收的波长。浊度法适用于悬浮液或胶体溶液中某些物质浓度的测定,多用于核酸、蛋白质及脂类溶液的检测。

4. 影响光谱分析的主要因素 光谱分析的基础是被测定物质的浓度和吸光度呈正比,但在实际测定中,往往容易发生偏离直线的现象而引入误差,导致误差的因素有化学因素、主观因素、光学因素。

(1)化学因素 被测溶液不遵守光吸收定律所引起的误差。主要有:被测物质浓度、溶液 pH、杂质、放置时间等。

(2)主观因素 由于操作不当所致,因为某些物质的生成及颜色的深浅,往往随加入试剂的量、加入顺序、试剂浓度、反应时间和反应温度等因素而发生改变。

(3)光学因素 由于仪器的性能低劣所引起的误差,仪器的性能好坏直接影响到测定结果的可靠性和精密性。

## (二)电泳技术

1. 基本原理 能电离或能吸附带电质点的物质在一定电场强度的电场中向所带电荷相反的电极移动的现象称为电泳。其中,电场、带电粒子和促使带电粒子移动的介质是产生电泳的三大要素。影响电泳技术的主要因素有:颗粒性质、电场强度、溶液性质、pH、离子强度、溶液黏度等。电泳分为区带电泳、等电聚焦电泳和转移电泳等。

### 2. 方法及特点

(1)区带电泳:目前在临床工作中最常用的电泳方法。因所用支持体的种类、粒度大小和电泳方式的不同,其临床应用价值也各有差异。

1)支持介质为滤纸、醋酸纤维素薄膜、硅胶、纤维素。

2)支持介质为淀粉、琼脂糖和聚丙烯酰胺凝胶。其优点为:①具有微细的多孔网状结构,具备分子筛效应,小分子物质比大分子物质跑的快而使分辨率提高;②几乎不吸附蛋白质,电泳无拖尾现象;③蛋白质在低浓度琼脂糖电泳时可自由穿透,阻力小,分离清晰,透明度高,能透过 200~700 nm 波长的光线,故电泳结束后无须“透明”,可减少操作步骤以及由此引起的误差;④因底板无色泽,也提高了对着色区带的检测敏感性。为此,第一类支持介质已被第二类支持介质替代。目前临床上区带电泳可用于脂蛋白及脂蛋白(a)、LDH 同工酶、CK 同工酶及亚型的检测。

(2)等电聚焦电泳:主要用于分离等电点不同的蛋白质,尤其是分子量接近而所带电荷不一样的两性分子物质。

(3)转移电泳:利用吸附作用将凝胶电泳所得的区带转移到滤纸或硝酸纤维素膜上,然后利用染色、放射自显影或酶免疫技术用于鉴定或检测,主要用于 DNA、RNA 的蛋白质的研究。

## (三)离心技术

离心技术是根据颗粒在作匀速圆周运动时受到一个向外的离心力的作用而发展起来的一种分离技术。依据离心机转速的不同,可分为低速离心(4000-r/min 以内)、高速离心(20 000 r/min,最大离心相对离心力可达 45 000 g)和超速离心(30 000 r/min 以上,最大离心相对离心力可达 645 000 g)。目前实验室样品的初级分离主要用的是低速离心机。

## (四)层析技术

1. 原理和特点 层析技术是利用不同物质理化性质的差异而建立起来的技术。所有层析系统由固定相和流动相组成,当待分离的混合物随流动相通过固定相时,由于各组分的理化性质存在差异,与两相发生相互作用的能力不同,在两相中的分配(含量对比)不同,而且随流动相向前移动,各组



分不断地在两相中进行再分配。与固定相相互作用力越弱的组分,随流动相移动时受到的阻滞力越小,向前移动速度越快。分部收集流出液,可得到样品中所含的各单一成分,从而达到各组分分离的目的。

由于层析法具有分辨率高、选择性好、速度快等特点,适用于杂质多、含量少的复杂样品分析,尤适用于生物样品的分离分析。

## 2. 分类

- (1) 吸附层析法:固定相是固定吸附剂,各组分在吸附剂表面吸附能力不同。
- (2) 分配层析法:各组分在流动相和静止液相(固相)中的分配系数不同。
- (3) 离子交换层析法:固定相是离子交换剂,各组分与离子交换剂亲和力不同。
- (4) 凝胶层析法:固定相是多孔凝胶,各组分的大小不同,因而在凝胶上受阻滞的程度不同。
- (5) 亲和层析法:固定相只能与一种待分离组分专一结合,以此和无亲和力的其他组分分离。

## (五) 电化学分析技术

利用物质的电化学性质,测定化学电池的电位、电流或电量的变化进行分析的方法称电化学分析法。电化学分析法有多种,如电位法、电导法等。电位分析法是利用电极电位和浓度之间的关系来确定物质含量的分析方法。表示电极电位的基本公式是能斯特方程式。

离子选择电极分析法是电位分析法中发展最为迅速、最为活跃的分支,对某些离子测定的灵敏度可达 $10^{-6}$ 数量级。在许多情况下不破坏试液或不用进行复杂的预处理,对有色、浑浊溶液都可进行分析。离子选择电极法在临床上主要用于测定血清钠、钾、氯等电解质。

## 二、常用免疫分析技术

1. 免疫比浊测定 抗原抗体在特殊缓冲液中快速形成抗原抗体复合物,使反应液出现浊度。当反应液中保持的抗体过剩时,形成的复合物随抗原增加而增加,反应液浊度亦随之增加,与一系列的标准液对照,即可计算出未知蛋白的含量。临床上用于免疫球蛋白、载脂蛋白及一些同工酶的检测。但是该法在抗原或抗体大大过剩的时候可形成可溶性复合物造成误差,并易受血脂的影响。

2. 放射免疫分析 主要包括竞争性放射免疫分析和免疫放射量分析。但是由于放射性物质使用的限制、短半衰期的限制以及 $^{125}\text{I}$ 标记物灵敏度的最低值限制等,限制了该技术的发展。

3. 酶免疫分析技术 系将酶催化化学反应的放大作用和抗原抗体免疫反应的特异性结合起来的一种微量分析技术。在该体系中,免疫反应进行后,标记在抗原或抗体上的酶可以催化相应底物产生呈色信号,转化为可检测的信号,通过对信号产物定量测定,就可准确检测出待测物质的含量。

4. 化学发光免疫分析 系将发光物质(或触发产生发光的物质)直接标记在抗原或抗体上,或经过酶促放大发光底物的发光反应,其中主要包括两个过程,即免疫反应和化学反应,发光反应的基本过程为:激发发光试剂 $\rightarrow$ 电子激发态中间体 $\rightarrow$ 基态+ $h\nu$ (光量子)。

5. 电化学发光免疫法 发光信号主要是由三联吡啶钌和三丙胺在电场(非化学反应)触发下产生发光的化学发光反应,通过电场来控制整个分析过程。该法具有背景噪音信号小、特异性高、灵敏度高等优点。

6. 时间分辨荧光免疫分析 该法是以抗原-抗体反应与荧光物质发光和时间分辨技术相结合的近代荧光光谱技术。利用镧系元素铕螯合物被激活后产生的特异荧光比一般的荧光持续时间长,因此,待短寿命的非特异本底荧光衰退后再测定长寿命的阳性荧光信号,称为时间分辨,这是该方法具有极高灵敏度的原因之一。

7. 流式细胞术 利用荧光素标记的抗体与细胞表面的分化抗原特异性结合,结合在细胞表面的荧光素通过激发光照射,发出一定波长的荧光,用流式细胞仪检测出与荧光素标记抗体特异性结合的细胞表面标志,同时检测散射光信号,可对细胞的大小、形状、光学同性、胞内颗粒折射等进行测定。

流式细胞术(flow cytometry, FCM)其最大的特点是在保持细胞及细胞器或微粒的结构及功



能不被破坏的状态下,通过荧光探针的协助,从分子水平上获取多种信号对细胞进行定量分析或纯化分选。具有快速、精密度高、信息量大等优点。可广泛用于细胞成分分析、细胞动力学分析、人体免疫功能检测、肿瘤学研究等。

### 三、生物芯片和生物传感技术

#### (一)生物芯片技术

1. 基本原理 把制备好的生物样品固定于经化学修饰的载体上,样品中的生物分子与载体表面结合,同时又保留其理化性质,在一定条件下,进行芯片上的生物分子反应,并使反应达到最佳状态,然后利用芯片专用监测系统对芯片信号进行监测,即可高效、大规模获得生物中待检测物质的信息。

2. 分类 生物芯片按固定的生物分子及材料不同分为基因芯片、蛋白质芯片、细胞芯片、芯片实验室等。

(1)基因芯片是通过检测基因的丰度来确定基因的表达模式和表达水平。

(2)蛋白质芯片是指把制备好的蛋白质样品固定于经化学修饰的载体上,蛋白质与载体表面结合,同时仍保留蛋白质的生物化学性质和生物活性,可高效大规模获取生物体中蛋白质的信息。

(3)芯片实验室是通过在玻片或硅片上制作各种微泵、阀、微电泳以及微流路,将生物化学实验室的分析功能浓缩固定在生物芯片上。

3. 应用 生物芯片运用于临床诊断具有快速定量、血样本用量少、结果正确率高、操作简单、试剂用量少等诸多优点,生物芯片还可以用于基因测序和药物筛选。

#### (二)生物传感技术

1. 原理 待测物质经扩散作用,进入固定化学敏感膜层,经分子识别发生生物化学反应,产生的信息被相应的化学或物理换能器转变成可定量和可处理的信号,再经二次仪表放大输出,便可经计算机计算出待测物的浓度。

2. 应用 酶电极可用于测定血糖、尿素等;杂合生物电极可用在血清甘油三酯、总胆固醇的测定等,热生物传感器可测定上述物质外还可测定尿酸、肌酐、清蛋白等多种物质。

### 四、酶蛋白分离纯化技术

酶的化学本质是蛋白质,用分离纯化蛋白质的技术一般均可应用于酶蛋白的分离。但由于酶易变性且分子量高,多利用蛋白质的特殊理化性质,采用盐析、透析等不损伤蛋白质结构的物理方法。纯化时绝对不能采用高温、过酸、过碱、剧烈振荡等实验条件。

具体步骤如下:

1. 原料选择 选择酶含量高、易分离、来源丰富、价格便宜的动植物组织或微生物。

2. 原料处理 细胞外酶可直接取细胞外液为原料;细胞内酶则需先破碎细胞。

3. 提取和分离纯化 在低温下,用水或低盐缓冲液,从已破碎的细胞中溶出酶,然后通过调节pH或加核酶等去除核蛋白和核酸。再用盐析、等电沉淀等方法分级分离,逐级提纯。

4. 酶纯度鉴定 常用方法是电泳法和免疫学法,“电泳纯”即在不同支持物中电泳均显示为一条区带,“免疫纯”即免疫反应时只出现单一的沉淀线。

5. 酶制品保存 一般在 $-20^{\circ}\text{C}$ 以下低温保存。结晶酶大多易于保存;不易结晶的酶用以下方法保存:①浓缩酶加入等体积甘油于 $-20^{\circ}\text{C}$ 保存;②冰冻干燥后保存。

### 五、临床生物化学的实验标本

临床生物化学实验标本主要有血液、尿液和脑脊液,其他体液如关节液、胸腹水等也是常用的生物化学的实验标本。血液标本包括静脉、动脉和毛细血管血。静脉血是应用最多的标本,静脉采血的部位成人多用肘前静脉,婴幼儿常用颈静脉。动脉血主要用于血气分析,毛细血管血目前已较少用。



原则上血液标本在晨起空腹时采集。其主要原因是：①尽可能减少昼夜节律带来的影响；②病人处于平静状态下，减少病人由于运动带来的影响；③减少饮食的影响；④易于与参考范围作比较。此外静脉采血时，患者应处于卧位或坐位，止血带使用后 1 min 内采血，见回血后立即松开。

影响血液标本成分变化的因素主要有生理、饮食（为减少其影响，采血时间通常在早晨空腹 6~12 小时后）、药物、溶血和储存等诸多因素的影响。

溶血对检验结果的影响主要有以下几方面：①使在红细胞内的浓度高于血浆的物质测定结果偏高，如乳酸脱氢酶(LDH)、酸性磷酸酶(ACP)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、钾离子( $K^+$ )等；②血红蛋白(Hb)可干扰胆固醇的酶法测定；③干扰光谱分析。要求采集的血标本离心后应尽快测定，一般不超过 2 小时，必要时冰箱保存。

## 六、临床生物化学实验方法的选择与评价

### (一) 实验方法的选择

1. 实验方法分级 临床生物化学实验方法根据其准确度和精密度的不同可分为三级：

(1) 决定性方法：准确度最高，系统误差最小，经过详细的研究，没有发现产生误差的原因或是在某些方面不够明确的方法。用于发展和评价参考方法和标准品。

(2) 参考方法(reference method)：指准确度和精密度已经充分证实的分析方法，干扰因素少，系统误差小，与重复测定的随机误差相比可忽略不计。有适当的灵敏度、特异性、直线性及较宽的分析范围。这类方法在条件优越的实验室中应经常使用，用于鉴定常规方法和二级标准品。

(3) 常规方法：指性能指标符合临床或其他目的的需要，有适当的分析范围而且经济实用。

2. 标准品分级 标准品是指一种或几种物理或化学性质已经充分确定，用于校正仪器或证实一种测定方法的物质，标准品分为三级。

(1) 一级标准品：已经确定为稳定而均一的物质，它的数值已由决定性方法确定，或由若干准确度高的方法确定，所含杂质也已经定量，并且有证书；用于校正决定性方法，评价及校正参考方法以及为“二级标准品”定值。

(2) 二级标准品：由实验室自己制备或为商品，其中有关物质的量由参考方法定值或用一级标准品比较而确定，主要用于常规方法的标化或为控制物定值。

(3) 控制物：以参考方法用一级或二级标准品定值，用于质量控制，不能用于校标。

实验方法和标准品之间的关系见图 2-1。

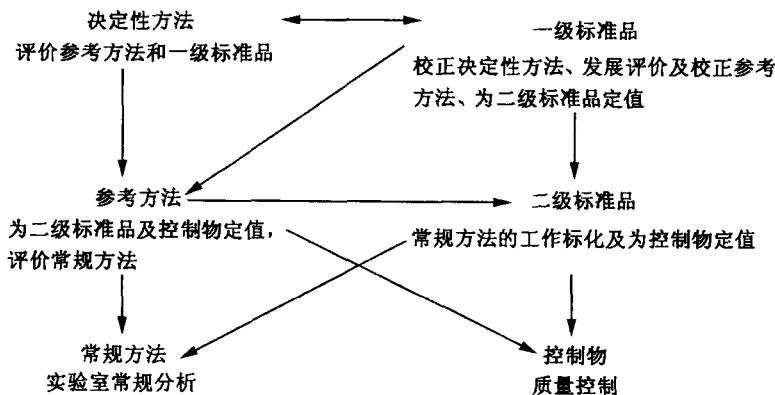


图 2-1 各级实验方法和标准品之间的关系图

3. 实验方法的要求 要求常规方法要有以下几方面的特性，即实用性（微量快速、便于急诊、费



用低廉、应用安全等);可靠性(精密度高、准确度高、特异性强、线性范围宽)等。

4. 实验方法选择的步骤 广泛查阅文献;选定候选方法;进行初步试验。

## (二)实验方法的评价

1. 线性范围 线性范围是指系统最终的输出值(浓度或活性)与被分析物的浓度或活性成比例的范围。线性范围的测量即测定浓度曲线接近直线的程度,它反映整个系统的输出特性。

线性实验应使用与病人标本相似或注明标本的基质类型,最少使用4个浓度水平,推荐5个水平。高值标本应高于线性上限30%,低值标本应低于线性低限。全部实验和数据采集应在同一工作日内完成。每个浓度标本重复测定4次。以分析物浓度为X轴,反应值或仪器输出值为Y轴,绘制X-Y线性图。目测线性和进行统计学分析,判断是否符合要求。

2. 重复性试验 考察候选方法的偶然误差,重复性试验的方法是对同一材料分成数份试验样品,进行多次分析测定,一般为20次。

### (1)试验方法

1)批内重复试验:在相当短的时间内重复测定,计算其 $\bar{X}$ 、SD、CV。

2)天内重复性试验:在一天内对一个或数个标本作数批重复测定,一般分5批每批作4次测定。

3)天间重复性试验:将同一标本每天随机插入常规标本中测定,连续20个工作日,这样得到的CV值比上述批内与天内大,能反映实际工作的情况。

(2)分析样品的选择:标准液、质控品、病人标本或混合血清均可以,视其用途而定。分析样品的浓度宜选择在医学上有决定意义的浓度进行试验。

3. 回收试验 即分析方法能正确测定加入常规分析样品中的纯分析物的能力。目的是测定比例系统误差,以衡量候选方法的准确度。

(1)试验方法:将被分析的纯品标准液加入样品中,成为分析样品,原样品加入同样的无分析物的溶液作基础样品,然后用试验方法分析,两者测定结果的差值为回收量,求出回收量与加入的标准液中被分析物的比值即为回收率。

(2)注意事项:准确吸量;样品中加入标准液后,总浓度必须在方法的分析范围内,一般须加入高、中、低不同浓度做回收试验,计算平均回收率;加入标准液后,最好使实验样品的被测浓度达医学决定浓度;加入标准液的体积一般在10%以内,若稀释过大,误差将改变,甚至消失。

4. 干扰试验 在加入一定浓度的干扰物存在的条件下,形成恒定系统误差,以衡量候选方法的准确度。

试验方法与回收试验基本相同,但加入的是疑有干扰或非特异性反应的物质而不是标准液。加入的可疑干扰物的浓度有可能应达到病理标本的最高浓度值,在确证有影响后,还应确定使其分析结果影响临床应用价值的最低干扰物浓度值。干扰试验有一定的局限性:只能试验某些物质的影响,尚有许多药物和食物未经验证,但不能认为无关。

5. 方法比较试验 对比方法可衡量候选方法的系统误差,包括比例系统误差和恒定系统误差。

(1)方法:对一组病人的标本用候选方法和对比方法同时进行分析,最后观察两者间的差异。最好选择参考方法作为对比方法,这样在结果解释时,可把方法间的任何分析误差都归于候选方法。

### (2)注意事项

1)试验样品数:40~100例,包括在常规工作中可能遇到的整个分析范围;

2)重复分析:每个样品用两种分析方法各测定一次,最好各测定两次,不是平行测定,而是分两批进行,最好在4小时内进行;

3)时间间隔:每天测定2~5个样品,约测定20天;

4)图示结果:比较方法所得值为横坐标,候选方法所得值为纵坐标。

(3)统计处理:方法比较试验所得结果为配对数据,可进行配对资料的统计处理。可建立回归方程 $y = bx + a$ ,  $a$ 反映了恒定系统误差, $b$ 反映了比例系统误差。 $r$ 反映了两种方法的相关程度。



表 2-1 显示评价实验与分析误差类型的关系。

表 2-1 评价实验与分析误差类型的关系

分析误差的类型	评价实验	
	初步试验	最后试验
偶然误差	批内或天内重复性	天间重复性
恒定误差	干扰	与比较方法对比
比例误差	回收	与比较方法对比

6. 临床生物化学方法学性能判断 候选方法被接受与否,最后根据评价实验中的误差结果进行归纳,作出判断。Westgard 曾经对医学决定水平上的分析误差,采用统计学方法制定出一套判断指标,首先制定“可允许误差的 95% 限度”,然后将各项误差与其比较,任何一项指标大于可允许误差都不能被接受。

(1)性能标准:由允许分析误差和医学决定水平两项内容组成,前者用  $E_A$  表示,被规定为 95% 样品的允许误差限度;后者用  $X_C$  表示,是临床判断结果有意义的被分析物浓度。对于每一医学水平都应规定相应的性能标准,即在一定  $X_C$  值下的  $E_A$  值。性能标准通常由临床医学家和临床化学家共同研究制定。

(2)指标判断:单值判断指标较简单,在评价过程中用于初步估计量,可信区间判断指标比较复杂,但能对方法性能提供更客观的决定;起最后判断作用。 $E_U$  为误差的可信上限, $E_L$  为误差的可信下限,若  $E_U < E_A$  则方法性能可接受;若  $E_L > E_A$  则方法性能必须改进,否则排除; $E_U > E_A, E_L < E_A$  仅说明数据不足,不能作出任何可接受性的结论。

如果候选方法被得出可接受性的结论,那么还要进行评价后实验,最后进入方法应用阶段。

## 七、临床生物化学诊断性试剂盒的选择和评价

### (一)诊断试剂盒的类型和选择

1. 液体型试剂和粉(片)剂型试剂 液体型试剂为目前和今后生化分析所使用的主要剂型。其优点是组分高度均一、瓶间差异小、测定重复性好、使用方便、无需加入外源性辅助试剂,避免了外源性物质的影响,性能较稳定,测定结果较准确。缺点是保存时间短,不便于运输。

干粉试剂若在冻干分装前是液体型的,则其各成分相当稳定;但若是固体原料研磨后制成的,则存在如下问题:成分不均一、分装过程中易引入称量误差、瓶间差异较大、外源性物质可影响试剂稳定性和测定准确性。

2. 单试剂和双试剂 与单试剂相比,双试剂具备抗干扰能力强、试剂更加稳定等优点,代表了诊断性试剂盒剂型研制的主要发展方向。

### (二)临床生物化学试剂盒质量的评价

1. 用户使用说明书的审查。
2. 理学检查。
3. 试剂盒的分析性能检测。

包括:①线性范围的测定;②酶促反应时间曲线或化学反应速率时间曲线观察;③稳定性试验,试剂稳定性是指试剂盒试剂在不同状态下贮存后所保持其测定准确性的能力,其稳定性与贮存条件密切相关,工作液的稳定性还和使用中污染与否密切相关,在评价时必须保持指定的贮存条件,并要严防污染。

## 八、临床生物化学检验全面质量控制

质量控制的观念:为达到质量要求所采取的作业技术和活动。





质量控制的目的是:监视过程,并排除质量环节所有过程中导致不满意的因素,以取得高质量效果和经济效益。

### (一)全面质量控制的内容

全面质量控制包括分析的前、中、后。

1. 分析前的质量控制 包括人员培训;实验室设备;实验仪器的质量保证;检测方法的选择和评价等。
2. 分析中的质量控制 包括建立项目操作程序;室内质量控制和结果分析。
3. 分析后的质量控制 包括报告实验结果,室内质控数据管理;参加室间质评等。

### (二)室内质量控制

1. 室内质量控制的定义 实验室的工作人员采取一系列的统计学的方法,连续地评价实验室测定工作的可靠程度,判断实验报告是否可发出,以及质量环节所有过程中导致不满意的因素过程,称为室内质量控制(internal quality control, IQC)。

2. 室内质量控制的目的是 检测控制本实验室测定工作的精密度并检测其准确度的改变,提高常规测定工作的批间或批内标本测定结果的一致性。

#### 3. 质控品

(1)定义:为质控目的而制备的标本为质控品,质控品因含有与被测标本相同的基础物质,其分析物应具有参考值、病理值和医学决定水平三种水平浓度。

(2)特性:①人血清基质或尽可能地与人血清基质一致;②无传染性;③添加剂或调剂剂的数量少且尽可能纯;④成分分布均匀且瓶间差异小;⑤反应速率尽量与人血清一致;⑥冻干品复溶后成分稳定。

4. 室内质控主要方法 最常用的是均值-标准差质控图,首先要确定质控图的平均水平和控制限,每天一份或多份(根据实验室要求确定)质控标本在病人标本测定相同的条件下进行测定,判断分析条件是否在控。具体操作如下:

#### (1)控制图的中心线(均值)和控制限的设定

1)稳定性较长的控制品:根据 20 或更多独立批获得的至少 20 次控制测定结果,对数据进行离群值检验(剔除超过  $3s$  外的数据),计算出平均数及标准差,作为暂定中心线和标准差;以此暂定中心线和标准差作为下一个月室内控制图的中心线和标准差进行室内控制;1 个月结束后,将该月的在控结果与前 20 个控制测定结果汇集在一起,计算累积平均数(第一个月)和标准差,以此累积的平均数和标准差做为下一个月控制图的中心线和标准差;重复上述操作过程,连续累积 3 至 5 个月,计算的累积平均数和标准差作为控制品有效期内的常规中心线和标准差。

2)稳定性较短的控制品:在 3 至 4 天内,每天分析每水平控制品 3 至 4 瓶,每瓶进行 2 至 3 次重复。收集数据,计算平均数、标准差和变异系数。对数据进行离群值检验,剔除超过  $3s$  的数据。如果有离群值,需重新计算余下数据的平均数和标准差,以此均值和标准差作为控制图的中心线和标准差。

拟更换新批号的控制品时,应在“旧”批号控制品使用结束前,将新批号控制品与“旧”批号控制品同时进行测定,重复上面的过程,设立新控制图的中心线(均值)和控制限。

3)绘制控制图及记录控制结果:根据控制品的均值和控制限绘制 Levey-Jennings 控制图(单一浓度水平),或将不同浓度水平绘制在同一图上的 Z-分数图上。将原始控制结果记录在控制图表上,保留打印的原始控制记录。

#### (2)控制规则 通常应用 Westgard 多规则,常用规则如下:

1)  $1_{2s}$  控制规则:一个控制测定值超过  $\bar{x} \pm 2s$  控制限,作为“警告”。

2)  $R_{3s}$  控制规则:一个控制测定值超过  $\bar{x} \pm 3s$  控制限时,则判断为该分析批为失控。这一规则主要对随机误差敏感,但也对大的系统误差产生响应。