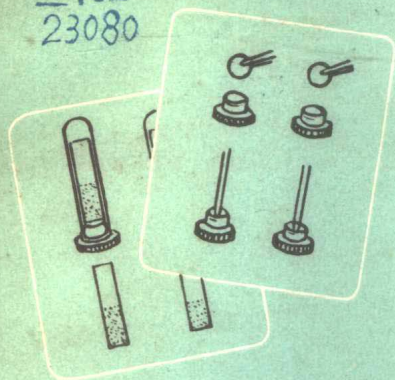


4432
23080

399618



快速检验诊断资料汇编

上海市第六人民医院检验组 编

快速检验诊断资料汇编

上海市第六人民医院检验组 编

人 民 卫 生 出 版 社

快速检验诊断资料汇编

开本: 787 × 1092/32 印张: 7号 字数: 172 千字

上海市第六人民医院检验组 编

人民卫生出版社出版

(北京市书刊出版业营业许可证出字第〇四六号)

北京市宣武区迎新街 100 号

北京印刷一厂印刷

新华书店北京发行所发行 · 各地新华书店经售

统一书号: 14048 · 3308

1973 年 1 月第 1 版—第 1 次印刷

定 价: 0.47 元

印数: 1—143,500

毛主席语录

备战、备荒、为人民。

把医疗卫生工作的重点放到农村去。

在生产斗争和科学实验范围内，人类总是不断发展的，自然界也总是不断发展的，永远不会停止在一个水平上。因此，人类总得不断地总结经验，有所发现，有所发明，有所创造，有所前进。停止的论点，悲观的论点，无所作为和骄傲自满的论点，都是错误的。

前 言

在毛主席无产阶级革命路线指引下，广大医学化验人员遵照毛主席关于“把医疗卫生工作的重点放到农村去”的教导，批判了所谓“医学检验不能下乡”等错误思想，破除迷信，解放思想，经过反复多次实践，对部分常见病多发病的繁琐检验项目大胆革新，试制出一些快速、简易、价廉的医学化验试剂，初步打开了医学检验工作面向农村、面向基层、面向边疆的道路，得到了广大工农兵群众的欢迎和支持。此外，有些单位还开展了一些新的医学检验项目。为了总结交流这方面的经验，卫生部委托上海地区举办全国快速简易诊断经验交流学习班。现将学习班所交流的部分资料汇编成册，供大家参考。

由于准备工作不够充分，所得资料比较局限，加上缺乏经验，错漏之处在所难免，希望同志们给予批评指正。

上海市第六人民医院检验组

一九七二年八月

目 录

聚苯乙烯胶乳及妊娠诊断胶乳凝集抑制试验	1
〔附〕 人类绒毛膜促性腺激素的粗制品纯化	30
妊娠诊断胶乳凝集抑制试验的临床应用	32
血吸虫病胶乳凝集试验	43
〔附一〕 钉螺饲养及人工感染钉螺的方法	46
〔附二〕 血吸虫病病兔肝脏分离纯净虫卵的方法	48
类风湿胶乳凝集试验	50
梅毒胶乳凝集试验	52
血红蛋白试纸	54
尿蛋白试纸	55
〔附〕 溴酚蓝乙酯的合成方法	59
尿糖试纸	60
尿酮体试纸	64
尿酸硷度试纸	67
隐血测定试纸	69
谷-丙转氨酶测定纸片	73
胆红质试纸	77
〔附〕 对硝基苯重氮对甲苯磺酸的合成方法	80
胆红质测定纸片	81
全血胆硷酯酶试纸	84
血清胆硷酯酶测定纸片	87
尿素氮测定纸片	92
尿路感染测定纸片	99
细菌对抗菌药物敏感性测定纸片	105
〔附〕 简易药物敏感性纸片制备方法	114

抗链球菌“O”溶血素测定片剂	117
麝香草酚浊度试验用片剂	133
硫酸锌浊度试验用片剂	135
几种细菌鉴定用微量管的制备	138
胎儿甲种蛋白(AFP)测定诊断原发性肝细胞肝癌	147
醋酸纤维薄膜血清蛋白电泳	158
醋酸纤维薄膜电泳测定乳酸脱氢酶同功酶	169
血清乳酸脱氢酶(LDH)、硷性磷酸酶(AKP)同功异构酶淀粉 凝胶电泳法	175
体液内葡萄糖简易定量法	183
血清总脂微量测定法	189
血清胆固醇快速微量测定法	194
血清硷性磷酸酶快速微量测定法	202
血清钙微量测定法	210
中草药对几种常见致病菌的敏感性实验	212
淋巴结穿刺涂片检查	229
狼疮细胞检查(改良血块法)	241

聚苯乙烯胶乳及妊娠诊断 胶乳凝集抑制试验

上海市第六人民医院检验组

聚苯乙烯胶乳是利用化工原料苯乙烯经过乳液聚合后得到的高分子胶乳液，它具有对蛋白质等多种生物高分子物质良好的吸附性能，利用聚苯乙烯胶乳的微小颗粒作为载体，以吸附某些抗原（或抗体）性物质以诊断相应的抗体（或抗原），是近年来应用得越来越广泛的一项免疫学诊断、研究的新技术，实践证明，利用聚苯乙烯胶乳来进行免疫诊断具有快速、简便、保存方便、比较准确等优点。

现就免疫学试验一般原理、载体的问题，组分、实验条件及制作的问题，保存的问题，使用中的问题，阳性和阳性率以及假阳性假阴性的问题作以下叙述，并就胶乳试验前途展望，需要解决的关键问题作一简要介绍。

一、免疫学试验的一般原理

这里还是从妊娠试验谈起，我们知道，当妇女在怀孕期间，胎盘绒毛膜能产生一种蛋白类激素——人类绒毛膜促性腺激素（简写 H. C. G.），该激素在怀孕早期即在孕妇尿中排出并短时期里显著升高。绒毛膜促性腺激素具有很好的抗原性，用它免疫家兔，在家兔体内会产生强烈的抗体，这为测定它的免疫学方法提供了理论上的可能性，但是，抗体与抗原的结合直接观察是比较困难的，因为目前测定这种结合的

方法或者要求二者具有很高的浓度或者方法甚为繁复，如环状沉淀试验，当抗原与抗体的浓度较大时，就可能在抗原与抗体的接触界面或反应管的底部出现沉淀；如果浓度不够，它们的结合就不易看到，这是因为抗原与抗体这些称为高分子的物质，而实际上却极其微小，即使它们数千数万地串在一起靠肉眼也不易看到。但是如果采用一个比较大的颗粒作为“载体”能够把抗原或抗载体在它的上面，于是，当再发生抗原与抗体结合时，就使许多载体颗粒也聚集起来，由于载体要比抗原、抗体大得多，这样，用肉眼就比较容易地看到了。聚苯乙烯胶乳颗粒就是起了一个所谓“载体”的作用，正如 pH 指示剂根据颜色的变化指示了酸碱度的作用一样，胶乳的凝集与否就显示了是否有抗体与抗原的作用(图 1)。

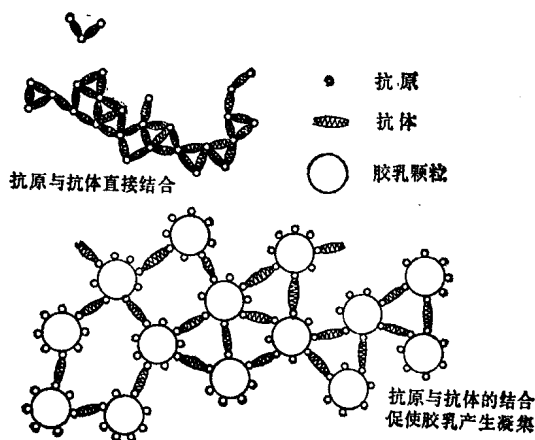


图 1 利用胶乳作为抗原的载体指示免疫反应示意图

作为载体的东西有几种，采用得较早，效果较显著又较成熟的是经过处理的羊红细胞；而利用聚苯乙烯胶乳作为载

体是近年来的工作，在我国已成功地使用到免疫法妊娠诊断及一些其他诊断上。

在妊娠诊断上采用了凝集抑制试验的原理，因为如果直接以抗体来测定抗原，就必须把抗绒毛膜促性腺激素血清吸附在胶乳上，这样的吸附比较复杂，也不够稳定，许多环节也尚未妥善解决，同时，这种方法敏感度也比较差。在此凝集抑制试验中，胶乳颗粒所吸附的属抗原，即绒毛膜促性腺

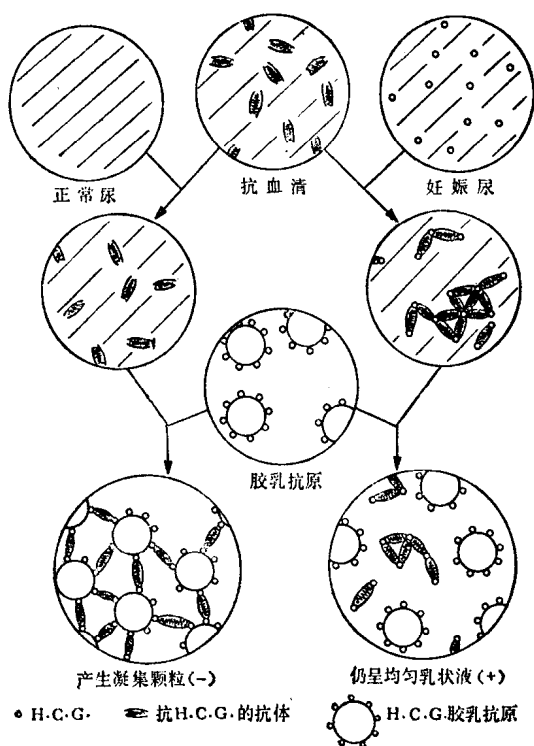


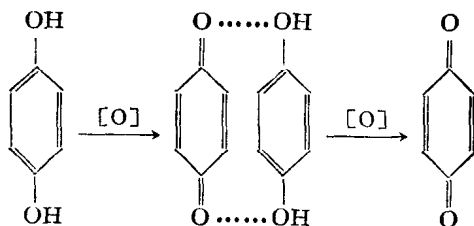
图 2 免疫法妊娠诊断胶乳凝集抑制试验示意图

激素，测定时，先把抗血清与被测尿加在一起，如果被测尿中含有此激素，即先与抗血清作用，胶乳抗原的加入即不发生变化，此时为阳性；如果尿中不含此激素，则胶乳抗原与抗血清发生凝集作用，是为阴性。以此来确诊被测者是否怀孕(图2)。

二、材料

1. 苯乙烯：采用上海高桥化工厂出品的苯乙烯作为合成聚苯乙烯的原料，也可使用其他化学试剂级的，含量在99%以上。使用前应先行去阻聚，因为出厂的商品苯乙烯为了避免在保存期间发生自聚而影响使用，通常加了阻聚剂对苯二酚，聚合前应把它除去。取含有对苯二酚的苯乙烯100毫升置分液漏斗，加入5~10%的氢氧化钠溶液20毫升，剧烈震荡5分钟。静置后，由于苯乙烯比重比水小，此时分层在上部，而被破坏的对苯二酚成为红棕色的对苯醌水溶液沉在下部，分离除去，上层液再以同法处理2~3次，然后以蒸馏水洗至中性(约3~5次，每次20~30毫升)，处理后的苯乙烯可装入瓶内，并放入少量无水氯化钙以吸去剩余的水份。用时不要带入沉淀底部的氯化钙。

反应式：



对苯二酚在碱性情况下极易氧化，首先成为醌氢醌，继续氧化成为对苯醌。

如苯乙烯已经自聚，粘度增高，不宜使用。

2. 人类绒毛膜促性腺激素 (H.C.G.): 系从孕妇尿中收集，提纯后使用，宜在 800~1,000 国际单位/毫克以上者。如低于此值，则应用效果较差或不宜应用。粗制品的纯化方法见本文附录部分。

3. 胰蛋白酶: 从牛胰蛋白酶或羊胰蛋白酶二种中任取一种，均为结晶产品。粉末状的非结晶品因质量相差甚为悬殊，不宜应用。

4. 10~14 G 烷基苯基磺酸钠: 乳化剂，粗制品可以用酒精萃取，以后分馏酒精纯化。使用时可配成浓度为 0.1% 的水溶液。

5. 过硫酸钾($K_2S_2O_8$ ，化学试剂级)。

6. 三聚磷酸五钠($Na_5P_3O_{10}$)。

7. pH 8.2 硼酸缓冲液:

硼酸(H_3BO_3 ，化学纯) 8.04 克

四硼酸钠($Na_2B_4O_7 \times 10H_2O$ ，化学纯) 6.67 克

氯化钠($NaCl$ ，化学纯) 9.0 克

溶解至 1,000 毫升，可稍加热，冷却后加入叠氮钠(NaN_3) 1.0 克，作为防腐剂。因 NaN_3 系易爆剧毒药品，遇热和激烈震动时会发生爆炸，应注意保存。如无叠氮钠，则可加入 0.1 克柳硫汞代替，但效果较差。

8. 抗 H.C.G. 血清: 免疫家兔获得，见制作部分。

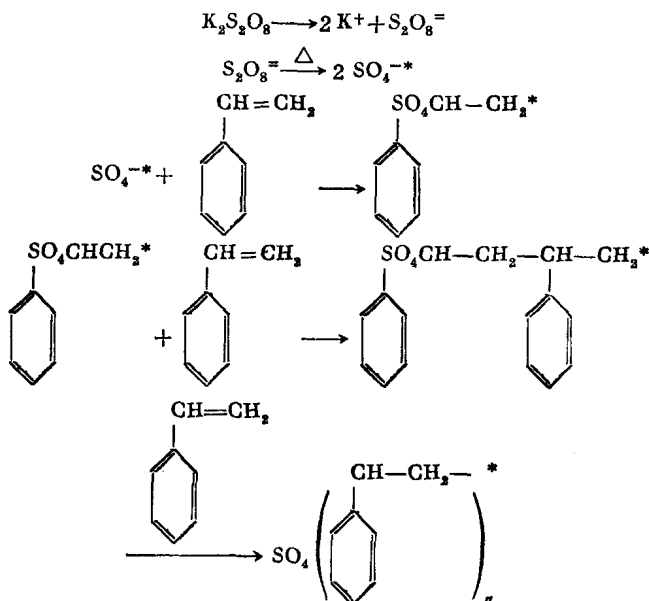
9. 水解明胶: 以质量较好的明胶水解后得到，详见制作部分。

10. 其他材料，详见制作部分。

三、制作方法

(一) 聚苯乙烯胶乳的合成

1. 合成原理：聚苯乙烯胶乳由苯乙烯采用乳液聚合以后得到。苯乙烯单体是一种油状无色有强烈刺激气味的有机原料，当有催化剂存在或旷日持久，受到日光照射，都可以使苯乙烯的乙烯键打开，起聚合反应，成为聚苯乙烯。本试验中的聚合反应采用了水溶性的过硫酸钾作为催化剂，反应在分散媒剂蒸馏水中进行。反应开始后，由于乳化剂的作用，使苯乙烯的分子被乳化剂拉入到水相中，形成许多“种子”，而过硫酸钾由于受到热力作用，解离后释放出大量“自由基”，促使苯乙烯的乙烯基双键打开并聚合起来，其反应式如下：



式中 $\cdot$ 代表“自由基”。

聚苯乙烯胶乳悬液，呈牛奶状，其小颗粒直径在 0.6~0.7 微米之间，在千倍显微镜下可见其布朗运动。

2. 反应装置 (图 3)。

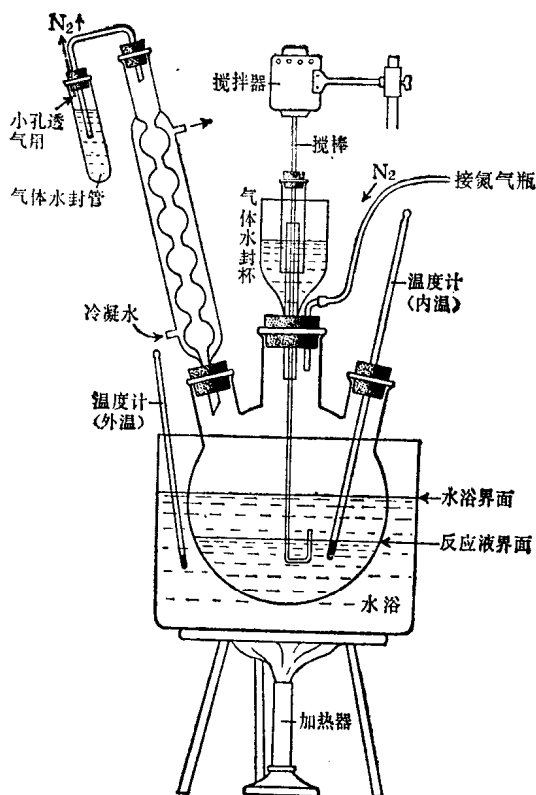
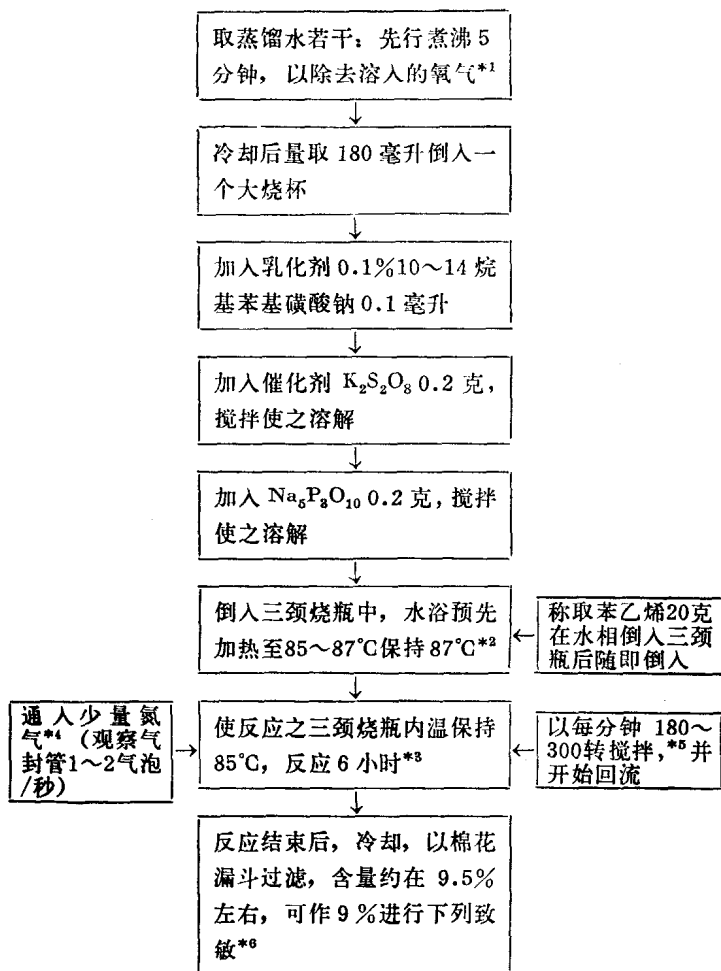


图 3 聚苯乙烯胶乳聚合反应装置示意图

3. 反应条件：反应温度为 85°C ，通入氮气，搅拌，迴流，共计时间为 6 小时。

4. 流程图:



说明：*1，*4——氧气对于苯乙烯的聚合反应有阻碍作用，称为阻聚。反应用水必须先行煮沸，除去溶解在水中的氧气，否则因氧的阻聚，使苯乙烯转化为聚苯乙烯的诱导期延长，聚合反应不能充分

完成。实验过程中通入氮气的目的也是为了防止空气中的氧气进入反应相。

* 2——由于反应装置对外界是密闭的，苯乙烯在 85°C 的挥发速度较快，故采用冷凝管进行回流，三颈烧瓶的内温要比水浴外温要低 2°C 左右，因此整个反应过程水浴温度应保持 87°C 左右。

* 3——整个反应采用 6 小时，实际上聚合反应在 4 个小时就已基本完成，苯乙烯的单体已不复存在。最后 2 个小时称为“老化”，目的在于提高聚苯乙烯颗粒的牢固度及稳定性。苯乙烯具有强烈的刺激性气味，而聚合反应完成以后，聚苯乙烯具有杏仁般的香味，故可以从气味辨别该聚合反应是否完成。4 小时后可以停止通氮。

* 5——搅拌对于反应完成的程度及聚苯乙烯形成的胶乳颗粒大小、均匀度都有较大影响。在我们聚合 1500 毫升乳液时，在 2000 毫升三颈烧瓶中进行，搅棒采用钩状（其规格见图 4，弯钩顶端露出 $\frac{1}{3}$ ）。合成总量不同，可以照比例增缩。

* 6——反应的完全程度可以用转化率来表示：

$$\text{转化率} = \frac{\text{反应后取得的聚苯乙烯固体总重量}}{\text{加入的单体重量}} \times 100\%$$

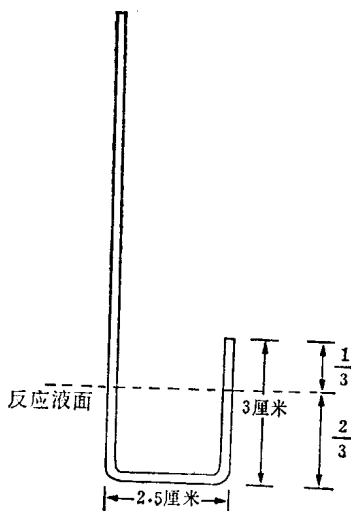


图 4 反应搅拌形态

在进行测定时可以取出少量胶乳样品,称重后放在105~110°C烘箱中烘干,求得恒重(一般烘24小时),然后以下式计算:

$$\text{转化率} = \frac{110^{\circ}\text{C} \text{ 24 小时烘干恒重后重量}}{\text{取出样品总重量}} \times \frac{10}{1} \times 100\%$$

式中 $\frac{10}{1}$ 系 $\frac{\text{单体+水}}{\text{单体}}$ 的比例。不同水比此数亦不同。

胶乳的浓度亦可以由固体量来表示:

$$\text{固体量} = \frac{110^{\circ}\text{C} \text{ 24 小时烘干恒重后重量}}{\text{取出样品总重量}} \times 100\%$$

此系用百分比表示,按上述方法所得到的聚苯乙烯胶乳其固体量通常在9~10%之间,由于致敏中可允许一定的范围的变化,所以可以作为10%来应用,也可以作为9%来应用。

5. 胶乳质量的鉴定:通过聚合反应后得到的聚苯乙烯胶乳悬液,其质量指标有色泽、气味、转化率、透光率、粒径、均匀度等项,其鉴定方法与要求见表1。

(二) 聚苯乙烯胶乳的致敏

1. 原理:聚苯乙烯胶乳的微小颗粒对于蛋白质之类的高分子物质具有良好的吸附性能,此吸附过程称为致敏。本试验中的聚苯乙烯胶乳吸附有人类绒毛膜促性腺激素,该激素在胶乳颗粒上作为抗原存在,所以称为胶乳抗原。吸附后以胰蛋白酶进行消化以提高效价,并在最后加入水解明胶起对胶乳抗原的保护作用,经过离心处理换取上清液,即可与抗血清配对使用。

2. 致敏条件:胶乳对激素的吸附温度采用50°C,时间1天;酶处理的温度50°C,时间7天,共计50°C,8天。取出后放置室温下3~7天加入水解明胶,4~7°C 1天后离心换取上清液,即可配对使用。