

临床化学方法学评价

罗 侃 主编
崔有宏 张大高 副主编

兰州大学出版社

临床化学方法学评价

主 编
副主编
编 者

罗 侃

崔有宏 张大高

(按姓氏笔划为序)

王绪明 支东学

祁玉曙 任治国

杨喜民 徐家明

曾志南

田 红 齐心亮

张大高 罗 侃

高锦孝 崔有宏

兰州大学出版社

内 容 简 介

本书是全面论述临床化学方法学评价的专著。总论部分三章介绍临床化学定量分析中的实验误差、怎样选择和评价临床化学实验方法、实验室基础工作的质量保证等基本理论和方法。各论部分九章讨论了临床化学 42 项 122 种常用检验方法的分析性能评价。每个检验项目内容主要包括方法的发展历史和应用现状、相关生理生化知识介绍、试剂和方法的标准化研究、方法分析性能特点的评价等,不仅对《全国临床检验操作规程》中的推荐方法作了翔实的评述,而且还评价了从大量有关中外文献中精选出的多种有应用前景的代表性方法,填补了国内这一领域的空白。

本书内容新颖、资料丰富,除用作医学检验专业教材外,亦可供从事临床生化检验、实验诊断教学、临床医学实验研究及生化试剂研制生产等专业人员学习参考之用。

临床化学方法学评价

罗 侃 主 编

崔有宏 张大高 副主编

兰州大学出版社出版发行

兰州市天水路 216 号 电话 8883156 邮编 730000

兰州七二二七工厂印刷

开本:787×1092 毫米 1/16 印张:23.75

1996 年 6 月第 1 版 1996 年 6 月第 1 次印刷

字数:570 千字 印数:1—5000 册

ISBN7-311-00922-7/R·42 定价:25.00 元

前 言

临床化学亦称生物化学检验,是医学检验专业的主干专业课程之一。该学科技术复杂,发展变革十分迅速。新试验和新技术方法不断涌现,许多特异性不高、准确性差的检验方法不断被淘汰,常规检验工作质量的要求越来越高。面对这样的发展形势,在教学中增设“方法学评价”课程内容是必然的选择。

自1985年以来,我们在教学中,比较系统地讲述了临床化学定量分析中的实验误差、怎样选择和评价临床化学实验方法、实验室基础工作的质量保证和40余项重点常规检验方法的分析性能评价,并开展了方法学评价的系列实验,使学生有了较强的方法优选意识,培养了方法评价的实际能力,对现今常用临床化学实验方法的分析性能及其优缺点有了较为透彻的了解,为正确选择、评价和改进检验方法,开拓创新、提高生化检验工作质量打下坚实的基础,收到良好的效果。1991年我们撰文公开呼吁在临床化学教学中增设“方法学评价”课程内容(见《医学教育》1991;7:39),得到医学教育领导部门和同行专家的赞同和支持。1994年5月国家卫生部教育司召开的卫生部医学教材评审委员会第二届三次会议中,专家们一致认为检验专科教材在内容上要突出实用性和方法学评价特点(见《医学检验教育》1994;1:48)。1995年5月中国人民解放军总后勤部卫生部在兰州召开了全军医学高等专科学校医学检验专业教改研讨会,会上推广了我们的教改经验,决定在医学检验专业增设临床化学方法学评价课程,同意将我校与成都医高专等院校协作编写的《临床化学方法学评价》一书作为暂定教材正式出版,供全军各医专试用。因此,本书编写的主要目的,首先是向医学检验专业的教学提供一本讲述临床化学方法学评价基本理论和基本方法的专科教材,以改变国内这一教材匮乏的状况。其次,本书也是为广大学医学检验工作者编写的参考书。

自70年代后期至今,国内临床化学分析工作者对常规检验方法的分析性能作了大量的研究工作(仅作者检阅到的国内外这一时期方法学探讨的文献就多达3200余篇),为国家卫生部淘汰陈旧落后的检验方法、推荐较为先进合理的替代方法提供了直接经验和科学依据。遗憾的是这么多的宝贵学术资料未能发挥它应有的效能(因为文献分布高度分散;国内生化检验教材和参考书中都未写进方法学评价的具体内容),致使不少人特别是基层单位的工作人员方法评价意识淡漠,对国家卫生部明令淘汰旧方法感到茫然。针对这种情况,作者除重点编写40余项临床化学教学实验项目的方法学评价外,还将视野扩大,凡临床化学分析工作中确实有用的实验方法,基本上“有闻必录”。从选题广度和内容深度上,使本书真正成为广大临床化学工作者在方法学评价方面的案头参考书,对提高我国临床化学分析工作质量有所裨益。

本书由富有临床化学教学和临床工作经验的同志协作编写。编写中对方法的发展历史和应用现状作了简要的回顾,以利于形成全面、系统、概括的印象;对相关的生化生理基础知识和关键试剂的作用原理及质量要求作了较为详细的论述,这对加深理解方法分析性能的特点是有好处的,编写的重点是实验条件(包括试剂、方法)的优化和方法分析性能的评价。

价两个方面,要求资料数据具有可靠性和代表性,以保证本书核心内容的正确性。为便于读者查阅,主要参考文献列于各章、节之后。

本书的编写出版,得到总后勤部卫生部科训局王谦局长、高永刚助理、国家卫生部老年医学研究所李健斋教授、全军临床检验中心朱忠勇教授、兰州医学院姚侃教授的亲切关怀和指导,南京军区福州总医院生化科胡望平主任提供宝贵资料;解放军兰州医学高等专科学校各级领导大力支持;闫玲同志绘制了书中的插图;陈永红、吴育凌等同志做了大量具体工作,谨此一并致谢!

由于我国临床化学分析工作中试剂标准化和方法规范化刚刚起步,一些理论和技术方法尚未最后真正地建立,加之编者学识水平和经验有限,书中谬误和不妥之处在所难免,恳请有关专家和读者批评指正。

编 者

1995年7月14日

目 录

第一章 临床化学定量分析中的实验误差

.....	(1)
第一节 实验误差的概念.....	(1)
第二节 实验误差的种类、产生原因及其纠正办法.....	(1)
一、系统误差	(1)
(一)特征	(1)
(二)来源	(2)
(三)表现形式	(6)
(四)纠正方法	(7)
二、随机误差	(7)
(一)来源	(7)
(二)特征	(7)
(三)纠正方法	(8)
(四)抽样误差	(8)
三、过失误差(责任误差)	(8)
(一)来源	(8)
(二)危害	(8)
(三)纠正方法	(8)
第三节 实验误差的相互转化	(9)
第四节 实验误差的表示方法	(9)
一、平均误差	(9)
二、标准偏差	(9)
三、绝对误差(偏差)	(10)
四、相对误差(偏差)	(10)
五、变异系数	(11)
六、总误差和各步骤误差的估计	(11)
第五节 实验误差的评价指标	(12)
一、精密度	(12)
(一)定义	(12)
(二)不精密度	(12)
(三)连续测定的精密度	(12)
(四)重复性精密度	(13)

(五)再现性精密度	(14)
二、正确度	(15)
三、准确度	(15)
第六节 离群值的处理——过失误差的判断	(18)
一、离群值的概念	(18)
二、处理离群值的一般原则	(18)
三、离群值的统计检验	(18)
(一)检验离群值的理论依据	(19)
(二)离群值的检验方法	(19)
第二章 怎样选择和评价临床化学实验方法	(22)
第一节 方法选择与评价的目的意义	(22)
第二节 临床化学分析方法的分级及命名	(22)
一、决定性方法	(23)
二、参考方法	(23)
三、常规方法或现场方法	(24)
第三节 实验方法分析性能的评价	(26)
一、实用性方法的选择	(26)
(一)方法选择的原则	(26)
(二)方法选择的具体步骤	(26)
二、实用性方法的评价试验	(27)
(一)精密度的估计	(27)
(二)准确度和特异性的评价	(28)
(三)检测能力的测定	(45)
三、可接受性的判断	(47)
(一)性能标准	(47)
(二)性能标准的确定	(47)
(三)性能标准的判断	(51)

四、评价实验的书面报告.....	(61)	(二)按用户类型分类	(77)
五、评价后实验和方法的正式使用.....	(61)	三、临床化学中的标准物质.....	(77)
(一)评价后实验	(61)	(一)临床化学中标准物质的分级	(77)
(二)正式交付使用前的准备工作	(61)	(二)临床化学中标准物质应具备的条件	(77)
第三章 实验室基础工作的质量保证	(63)	(三)确定示值的途径	(78)
第一节 实验用水的质量要求	(63)	(四)临床化学常用的标准物质	(78)
一、试剂级纯水的等级标准.....	(63)	第五节 常用量器的校正与正确使用	(81)
二、试剂级纯水的制备和用途.....	(65)	一、与量器有关的几个概念.....	(81)
三、试剂级纯水的贮存、运输和使用	(65)	(一)标准温度与标称容量	(81)
四、试剂级纯水的纯度检查.....	(65)	(二)量入式和量出式	(81)
第二节 试剂及试剂配制	(66)	(三)完全流出式与不完全流出式	(81)
一、化学试剂.....	(66)	(四)量器的级别	(81)
(一)国产化学试剂的规格	(66)	二、常用量器的允差标准.....	(81)
(二)进口试剂规格	(66)	三、量器校正.....	(82)
(三)特殊规格的试剂	(68)	(一)基本方法	(82)
(四)选用试剂的原则	(68)	(二)容量瓶的校正	(83)
(五)试剂的恒重和纯化	(68)	(三)滴定管的校正	(83)
(六)试剂的保管	(68)	(四)吸量管的校正	(84)
二、试剂的配制.....	(68)	(五)微量吸管的校正	(84)
(一)试剂配制中的浓度表示方法	(68)	(六)取液器的校正和监测	(85)
(二)配制方法	(71)	四、常见量器的正确使用.....	(85)
(三)标准酸碱溶液的配制与标定	(72)	(一)容量瓶	(85)
第三节 试剂盒及其质量的用户评估	(73)	(二)量筒	(85)
一、检查包装是否完整.....	(74)	(三)有分度吸量管	(86)
(一)外包装	(74)	(四)奥氏吸管	(86)
(二)内包装	(74)	(五)移液吸管	(86)
(三)说明书	(74)	(六)取液器	(86)
二、对试剂盒所装试剂质量的初步评估	(75)	第六节 常规仪器的检定与正确使用	(87)
三、对试剂盒所装试剂性能特征的评估	(75)	一、分光光度计.....	(87)
(一)准确度的测定	(75)	(一)波长校正	(87)
(二)精密度的检验	(75)	(二)线性检查	(89)
(三)干扰物试验	(75)	(三)杂光检测	(89)
(四)线性范围的测定	(75)	(四)比色杯的配套性检查	(90)
(五)稳定性试验	(76)	(五)稳定性的检定	(91)
第四节 标准物质	(76)	(六)吸光度校正	(91)
一、标准物质的基本概念.....	(76)	(七)正确使用	(91)
二、标准物质的分类.....	(76)	二、分析天平.....	(92)
(一)按标准物质的性质和用途分类	(76)	(一)天平的精度分级	(92)
		(二)天平的正确使用	(92)

(三)天平的维护保养	(93)	三、热沉淀比浊法	(122)
(四)天平的检定	(93)	(一)试剂(缓冲液)配方的选择	(122)
第四章 蛋白质测定	(94)	(二)方法的分析性能	(122)
第一节 血清总蛋白含量测定	(94)	四、硫酸铵—EDTA 比浊法	(124)
一、微量凯氏定氮法	(94)	(一)显浊液配方的选择	(124)
(一)检出限和测定范围	(94)	(二)方法的分析性能	(125)
(二)准确度	(94)	五、考马斯亮兰微量比色测定法	(126)
(三)精密度	(95)	(一)沉淀剂的选择	(126)
(四)用作血清蛋白标准品定值方法的不 准确性因素	(95)	(二)方法性能	(126)
二、双缩脲法	(96)	第四节 尿蛋白总量测定	(127)
(一)试剂配方的选择与评价	(96)	一、尿蛋白总量测定方法的评价	(127)
(二)标化测定	(98)	(一)磺基水杨酸法	(127)
(三)蛋白标准液的标化	(99)	(二)三氯醋酸法	(128)
(四)常规测定方法的标准化	(100)	(三)钨酸法	(128)
(五)方法的可靠性	(100)	(四)海胺 1622 法	(129)
三、酚试剂法	(105)	(五)双缩脲比色法	(129)
(一)试剂组方的比较	(105)	(六)酚试剂比色法	(129)
(二)蛋白标准液	(106)	(七)丹宁酸—氯化铁比色法	(130)
(三)标准工作曲线的制备	(106)	(八)丽春红蛋白结合法	(130)
(四)方法的分析性能	(107)	(九)考马斯亮兰 G—250 法	(130)
四、紫外吸收法	(108)	(十)邻苯三酚红—钼酸盐法	(132)
第二节 血清白蛋白测定	(109)	(十一)半定量试纸法	(133)
一、溴甲酚绿法	(109)	二、尿蛋白总量测定标准物的选择应用	(133)
(一)试剂标准化问题	(109)	(一)健康人及病理性尿蛋白组份的构成 特征	(133)
(二)标准品的选择	(113)	(二)不同组份标准品对测定结果的影响	(135)
(三)显色时间对测定值的影响	(114)	(三)标准品的选择应用	(135)
(四)影响测定准确性的其它因素	(114)	第五节 脑脊液蛋白质总量测定 	(138)
(五)与其它参比方法的对比	(115)	一、正常脑脊液蛋白组份的构成特征 ...	(138)
二、溴甲酚紫法	(116)	二、常规方法的评价	(139)
(一)BCP 与血清白蛋白反应的特异性	(116)	第五章 糖及其代谢产物测定	(141)
(二)与其它参比方法的对照	(118)	第一节 标本的选择、处理及保存 	(141)
(三)温度对呈色的影响	(118)	一、血糖标本	(141)
(四)准确度	(118)	(一)标本选择	(141)
(五)重复性	(118)	(二)抗凝剂和血糖保护剂的选择	(141)
(六)干扰	(118)	二、乳酸和丙酮酸测定标本	(142)
(七)BCP 与牛、猪血清的反应	(119)	(一)测定乳酸的标本	(142)
三、乙醛酸法	(119)	(二)丙酮酸测定的标本	(143)
第三节 血浆纤维蛋白原测定	(119)		
一、亚硫酸钠盐析双缩脲比色法	(121)		
二、凝块分离双缩脲比色法	(122)		

第二节 血浆葡萄糖测定	(143)	(一)钾的酶法测定	(166)
一、邻甲苯胺法	(145)	(二)钠的酶法测定	(166)
(一)测定方法的历史和现状	(145)	五、标本的采集和贮存	(167)
(二)实验条件探讨	(145)	第二节 氯测定	(168)
(三)方法可靠性	(147)	一、库仑滴定法	(168)
二、葡萄糖氧化酶法	(148)	(一)仪器工作原理	(168)
(一)测定方法的历史和现状	(148)	(二)技术关键	(169)
(二)关于 Trinder 反应	(148)	(三)方法分析性能	(169)
(三)GOD—POD 法试剂盒的质量标准与评价	(149)	二、硫氰酸汞比色法	(171)
(四)国家卫生部推荐的 GOD—POD 法与 Tirnder 改良法的实验条件	(151)	(一)试剂组成与反应条件	(171)
(五)方法可靠性	(151)	(二)方法分析性能	(172)
三、己糖激酶法	(152)	三、硝酸汞滴定法	(172)
(一)测定方法的历史和现状	(152)	四、离子选择电极法	(174)
(二)实验条件与试剂要求	(153)	五、酶法测定	(174)
(三)方法可靠性	(154)	(一)测定原理	(174)
第三节 乳酸和丙酮酸的酶法测定	(155)	(二)方法分析性能	(174)
一、乳酸的酶法测定	(155)	第三节 钙的测定	(175)
(一)分析方法的发展历史与现状	(155)	一、分析方法现状	(175)
(二)酶比色法的反应原理与实验条件	(156)	二、对总钙分析方法的评价	(176)
(三)方法可靠性	(158)	(一)原子吸收光谱法	(176)
二、丙酮酸的酶法分析	(158)	(二)邻甲酚酞络合酮比色法	(177)
(一)测定方法的历史与现状	(158)	(三)甲基麝香草酚兰比色法	(178)
(二)方法可靠性	(159)	(四)络合滴定法	(179)
第六章 无机离子测定	(161)	第四节 无机磷测定	(180)
第一节 钾钠离子测定	(161)	一、分析方法现状	(180)
一、火焰原子发射光谱法	(161)	(一)还原法	(180)
(一)钾钠原子的特征性发射光谱	(161)	(二)非还原法	(182)
(二)内标准法的优越性	(161)	(三)酶法	(183)
(三)参考方法的主要技术要求	(161)	二、代表性分析方法的方法学评价	(183)
二、离子选择电极电位测定法	(163)	(一)硫酸亚铁铵法	(183)
(一)钾、钠离子选择电极的结构与响应特性	(163)	(二)米吐尔直接显色法	(184)
(二)方法分类	(163)	(三)邻苯二胺法	(184)
三、对钾钠测定 FAES 法和 ISE 法的评价	(164)	(四)孔雀绿直接显色法	(185)
(一)方法对比试验	(164)	(五)结晶紫试剂法	(186)
(二)干扰因素	(165)	(六)紫外法	(186)
四、钾、钠的酶法测定	(166)	(七)黄嘌呤氧化酶法	(188)
		第五节 血清镁测定	(189)
		一、中子活化同位素稀释法	(189)
		二、原子吸收分光光谱法	(189)
		三、甲基麝香草酚兰比色法	(189)
		四、Calmagite 染料比色法	(190)
		五、钛黄比色法	(191)

六、HK—G6PDH 偶联法	(192)	(二)连续监测法	(221)
第六节 血清铁测定	(193)	(三)比色法	(223)
一、不除蛋白的亚铁嗉法	(195)	(四)标本	(223)
二、除蛋白亚铁嗉法	(195)	五、乳酸脱氢酶	(224)
第七章 酶类测定	(197)	(一)测定方法的历史和现状	(224)
第一节 概述	(197)	(二)连续监测法	(225)
一、关于酶活性浓度测定的推荐方法 ..	(197)	(三)比色法	(227)
二、常用名词术语	(198)	(四)标本	(227)
(一)酶(催化)活性浓度	(198)	六、 γ -谷氨酰(基)转移酶	(227)
(二)活性单位	(198)	(一)测定方法的历史和现状	(228)
(三)“连续监测法”和“动态法”	(198)	(二)连续监测法	(228)
(四)最适条件	(199)	(三)比色法	(230)
(五)测定酶、指示酶、辅助酶	(199)	(四)标本	(231)
(六)同工酶	(199)	七、淀粉酶	(231)
(七) K_m	(199)	(一)测定方法的历史和现状	(231)
(八)反应初速度	(200)	(二)碘—淀粉比色法	(233)
(九)反应级数	(200)	(三)标本	(234)
三、反应温度	(201)	八、肌酸激酶	(234)
四、样品采集、贮存和高酶活性样品的稀释	(201)	(一)测定方法的历史和现状	(234)
(一)溶血	(201)	(二)连续监测法	(235)
(二)抗凝剂	(202)	(三)肌酸比色法	(236)
(三)酶的稳定性和贮存条件	(202)	(四)标本	(236)
(四)高酶活性血清样品的稀释	(203)	第三节 同工酶测定	(238)
第二节 常用酶活性浓度测定	(204)	一、同工酶的概念	(238)
一、丙氨酸氨基转移酶	(204)	二、临床常用同工酶的分离测定方法 ..	(239)
(一)测定方法的历史和现状	(204)	(一)电泳法	(239)
(二)连续监测法	(205)	(二)色谱法	(240)
(三)比色法	(208)	(三)免疫学法	(240)
(四)标本	(212)	(四)动力学法	(241)
二、天冬氨酸氨基转移酶	(212)	三、临床常用同工酶的测定	(241)
(一)测定方法的历史和现状	(212)	(一)肌酸激酶同工酶	(241)
(二)连续监测法	(213)	(二)乳酸脱氢酶同工酶	(243)
(三)比色法	(215)	第八章 血脂、脂蛋白和载脂蛋白测定	(245)
(四)标本	(215)	第一节 血清总胆固醇测定	(245)
三、碱性磷酸酶	(215)	一、测定方法的历史和现状	(245)
(一)测定方法的历史和现状	(216)	二、方法分级	(246)
(二)连续监测法	(217)	(一)决定性方法	(246)
(三)磷酸苯二钠比色法	(219)	(二)参考方法	(246)
(四)标本	(220)	(三)常规方法	(247)
四、酸性磷酸酶	(220)	三、传统的强酸试剂显色法	(247)
(一)测定方法的历史和现状	(220)	(一)基本显色反应的评价	(247)

(二)测定方法的分类·····	(249)	(四)胆固醇测定方法·····	(276)
(三)修改的 LRC 法的评价·····	(249)	(五)方法的分析性能·····	(276)
四、酶法·····	(250)	三、Friedewald 计算法的评价·····	(277)
(一)酶法测定胆固醇的反应步骤·····	(251)	(一)建立 F 公式的依据·····	(277)
(二)工具酶的来源和特性·····	(251)	(二)Friedewald 计算法存在的问题·····	(277)
(三)测定方法的分类·····	(251)	(三)关于对 F 公式的修改意见·····	(277)
(四)应用国产酶试剂分析法·····	(252)	(四)对计算法实用性的倾向性结论·····	(278)
五、样品采集、贮存及稳定性·····	(255)	第六节 载脂蛋白测定·····	(279)
第二节 血清甘油三酯测定·····	(256)	一、测定方法的现状·····	(280)
一、测定方法的历史和现状·····	(256)	二、载脂蛋白免疫测定方法中存在的问题·····	(280)
二、化学测定法·····	(257)	(一)抗原问题·····	(280)
(一)化学测定法的常用方法·····	(257)	(二)抗体问题·····	(281)
(二)化学法的基本步骤·····	(257)	(三)参考标准问题·····	(282)
(三)异丙醇抽提—乙酰丙酮显色法·····	(258)	三、各种载脂蛋白免疫测定法的优缺点·····	(282)
三、酶法·····	(260)	(一)单向免疫扩散法·····	(282)
(一)基本反应·····	(260)	(二)火箭电泳法·····	(282)
(二)干扰因素·····	(262)	(三)放射免疫法·····	(282)
(三)国内常规酶法的评价·····	(264)	(四)酶联免疫测定法·····	(283)
四、标本采集和保存·····	(265)	(五)比浊测定法·····	(283)
第三节 血清脂蛋白分析·····	(266)	四、临床常用免疫测定法的评价·····	(283)
一、分析方法的现状·····	(267)	(一)血清 apoAI 及 B 的免疫透射比浊法测定·····	(283)
二、血清脂蛋白琼脂糖电泳·····	(268)	(二)血清载脂蛋白 AI 及 B 的火箭电泳测定法·····	(284)
(一)脂蛋白的染色·····	(269)	(三)载脂蛋白(a)的酶联免疫测定法·····	(285)
(二)电泳条件·····	(269)		
(三)结果判断方式·····	(269)		
(四)标本·····	(269)		
第四节 高密度脂蛋白及其亚组份胆固醇测定·····	(270)		
一、高密度脂蛋白胆固醇测定·····	(270)	第九章 非蛋白质氮类化合物测定·····	(287)
(一)分析方法的现状·····	(270)		
(二)HDL 的选择性沉淀分离·····	(270)	第一节 血清尿素测定·····	(287)
(三)关于胆固醇测定·····	(272)	一、测定方法现状·····	(287)
二、HDL 亚组份胆固醇测定·····	(272)	二、几种测定尿素常规方法的方法学评价·····	(288)
(一)分析方法的现状·····	(272)	(一)二乙酰—脲法·····	(288)
(二)聚乙二醇 20000 沉淀法·····	(272)	(二)尿素酶 Berthelot 法·····	(288)
第五节 血清低密度脂蛋白胆固醇测定·····	(273)	(三)酶偶联速率法·····	(290)
一、分析方法的现状·····	(274)	第二节 血清肌酐测定·····	(292)
二、PVS 法·····	(276)	一、分析方法现状·····	(292)
(一)基本原理·····	(276)	二、几种常用肌酐测定方法的评价·····	(292)
(二)试剂组方·····	(276)	(一)碱性苦味酸比色法·····	(292)
(三)沉淀 LDL 的实验条件·····	(276)	(二)漂白土碱性苦味酸法·····	(293)

(三)速率法·····	(294)	(三)对 Zimmermann 反应间二硝基苯法 的评价·····	(323)
(四)酶法·····	(295)	三、尿 17-羟皮质类固醇测定·····	(324)
第三节 尿酸测定·····	(296)	(一)分析原理与方法现状·····	(324)
一、尿酸酶紫外吸收法·····	(297)	(二)分析性能的评价·····	(324)
(一)方法的发展历史与现状·····	(297)	第二节 放射免疫测定法·····	(325)
(二)主要反应及测试条件·····	(297)	一、放射免疫分析技术的发展与现状·····	(325)
(三)分析性能的可靠性·····	(297)	二、竞争性结合分析法的基本原理·····	(326)
二、尿酸酶-POD 偶联比色法·····	(299)	三、剂量反应曲线的数据处理·····	(327)
(一)测定方法的历史和现状·····	(299)	(一)对纵坐标参数的计算·····	(327)
(二)方法的可靠性·····	(299)	(二)半对数坐标绘图法·····	(328)
三、磷钨酸法·····	(300)	(三)剂量反应曲线的拟合·····	(328)
(一)测定方法的历史和现状·····	(300)	四、RIA 方法的主要性能指标·····	(328)
(二)方法的可靠性·····	(300)	五、几种常用 RIA 分析方法的评价·····	(329)
第十章 肝功能试验·····	(303)	(一) ¹²⁵ I 标记 T ₄ 放免测定·····	(329)
第一节 血清胆红素测定·····	(303)	(二)人血清生长激素单克隆抗体 RIA 测定·····	(329)
一、改良 J-G 法·····	(304)	(三) ³ H 标记血浆醛固酮微量直接放免 测定·····	(329)
(一)测定方法的历史和现状·····	(304)	(四) ¹²⁵ I 标记 cGMP 放射免疫测定·····	(330)
(二)试剂与方法的标准化·····	(305)	(五) ³ H 标记血浆血栓素 B ₂ 放射免疫测定 ·····	(330)
(三)方法的可靠性·····	(310)	第十二章 临床药物监测·····	(332)
二、胆红素氧化酶法·····	(310)	第一节 概述·····	(332)
(一)测定方法的历史和现状·····	(310)	第二节 抗癫痫药物·····	(333)
(二)方法的可靠性·····	(311)	一、测定原理·····	(334)
(三)结合胆红素的酶法测定·····	(311)	二、实验条件的选择·····	(334)
第二节 血氨测定·····	(313)	(一)仪器配置·····	(334)
一、概述·····	(313)	(二)分析柱·····	(334)
(一)标本的采集与保存·····	(313)	(三)样品预处理·····	(334)
(二)血氨的“真值”问题·····	(313)	(四)流动相组成和流速·····	(334)
二、对常用血氨测定方法分析性能的 评价·····	(314)	(五)标准品及标准曲线·····	(334)
(一)直接显色法·····	(314)	(六)检测波长的确定·····	(335)
(二)谷氨酸脱氢酶速率法·····	(316)	(七)进样量的确定·····	(335)
(三)离子交换法·····	(316)	(八)量程与记录仪·····	(335)
(四)氨电极法·····	(316)	(九)定量方法·····	(335)
第十一章 激素及其代谢产物的测定 ·····	(319)	(十)内标准物质的选择原则和来源·····	(335)
第一节 化学测定法·····	(319)	三、方法分析性能·····	(336)
一、尿液香草基杏仁酸测定·····	(320)	第三节 三环类抗抑郁药·····	(336)
(一)分析方法的现状·····	(320)	一、HPLC 法分析 TCA _s 的实验条件·····	(337)
(二)对硝基苯胺法·····	(321)	二、HPLC 法分析性能·····	(338)
二、尿液 17-酮类固醇测定·····	(322)	第四节 环孢霉素·····	(339)
(一)分析原理和方法现状·····	(322)		
(二)参考方法和建议采用的方法·····	(323)		

一、实验条件的选择	(339)	第三节 样品预处理及标志蛋白质的	
(一)放射免疫分析法	(339)	选择与使用	(356)
(二)HPLC 法	(341)	一、样品缓冲液	(356)
二、方法可靠性	(342)	二、尿样品的预处理	(357)
第五节 抗心律失常药	(342)	三、标志蛋白质的选择和标准工作曲线的	
第六节 地高辛测定	(344)	数据处理	(357)
第七节 氨基糖苷类抗菌素	(345)	第四节 电泳、染色及扫描定量 ...	(358)
第八节 茶碱	(347)	一、加样	(358)
第十三章 尿蛋白组分 PAGE 定量检测		二、电泳	(360)
法的方法学探讨	(350)	三、染色方法的选择与评价	(360)
第一节 概述	(350)	(一)考马斯亮兰 R250 染色法	(360)
一、方法的发展历史与应用现状	(350)	(二)铬银染色法	(360)
二、PAGE 的优点和分类	(350)	(三)其它染色法	(361)
三、SDS 的作用	(351)	四、扫描的技术指标与两种染色法扫描一致	
四、催化剂催化凝胶聚合的机理	(352)	性观察	(361)
五、凝胶配方中尿素的作用	(352)	第五节 为铬银染色 SDS—PAGE 方	
第二节 适用于尿蛋白组分定量电泳		法临床应用所作的基础研究	
分析的凝胶配方与聚合条件		工作	(363)
的控制	(352)	一、健康人血清蛋白组份参考值的调查	
一、凝胶配方	(352)		(363)
二、凝胶溶液中单体浓度的选择	(353)	二、健康人尿蛋白组份参考值的调查 ...	(363)
三、凝胶聚合条件的探讨	(355)	三、诊断标准	(364)

第一章 临床化学定量分析中的实验误差

临床化学的分析对象是人体血液、尿液、脑脊液等标本中化学组份，依其质与量的变化为疾病的临床诊断、治疗和预后判断提供可靠信息。本学科的艰巨任务要求它的实验方法尽可能的特异、灵敏、精密、准确、实用，以保证所提供实验数据的权威性。但是由于实验方法不够完善，分析试剂的质量和使用仪器自身精度的限制，以及操作人员专业知识和技术水平等主、客观因素的影响，总会不可避免地、或多或少地带来实验误差。而这些分析误差有时会歪曲客观事物的本来面目，引导我们做出错误的结论。因此正确地认识实验误差的属性和产生原因，对消除或缩小实验误差，保证检验质量是非常重要的。

第一节 实验误差的概念

某量值的给出值与其客观真值之差称为实验误差，简称误差 (error)。给出值包括测量值、标称值、示值、预置值、计算近似值等非真值。给出值有广泛性，而真值是唯一的客观标准。此定义强调的是误差是给出值的误差，而非真值的误差。从逻辑上讲，给出值含有误差，给出值扣除误差后即可得到真值。

标本中被测物的真实浓度称为真值。真值是客观存在的，但在有限次的测定中，人们不可能求得真值。因此人们通常所求的真值，并非绝对的真值，而是相对意义上的真值，所谓相对意义上的真值是指国际会议或标准化组织或国际上公认的量值（例如标准原子量值），国家标准样品的标称值等等。在实际工作中，可在最严格的实验条件下，使用最准确和最精密的方法，经过多次（至少 20 次以上）测定所得的测定值的平均值，来代表相对意义上的真值。这样就把偏差作为误差来处理，而这种权宜的处理是有前提和有条件的。

误差的大小是衡量一个测量不准确性的尺度，它反义地表明测量准确性的大小。即误差越小，测量的准确度越高。

第二节 实验误差的种类、产生原因及其纠正办法

根据实验误差的来源和性质，可分为系统误差、随机误差和过失误差三大类。

一、系统误差 (systematic error, SE) 又称可测误差 (determinate error, DE)

(一) 特征

1. 系统误差是指一系列测定值存在有相同倾向的偏差，或大于真值、或小于真值，即具有单向性特点，其数值基本不变。

2. 系统误差是由恒定的因素所引起，在一定条件下可在多次测定中重复出现，误差的大小往往可以测出。

3. 系统误差的原因是能够找到的，故可采取一定措施加以纠正。
4. 系统误差不服从正态分布规律，没有随机性，对它的处理需靠专业知识。
5. 系统误差与方法准确度相对应，消除系统误差能提高分析的准确度。

(二) 来源

系统误差见于：

1. 方法误差：是临床化学检验中最严重而又是最难避免的误差。在当前，临床化学检验多采用比色分析法，要从复杂的标本中测定某单一组份，如果方法特异性差，所用的显色剂还会和被测成分以外的其它成分发生本底效应 (Matrix effect) 干扰测定结果。例如，用溴甲酚绿法测定血清白蛋白时，溴甲酚绿除与血清白蛋白反应外，还与 α 球蛋白和 β 球蛋白结合，这时如果使用纯白蛋白做标准，可使血清白蛋白测定值高于实际 5—6g/L，于球蛋白增高或白蛋白低下的病例甚至高出 10g/L 以上。

方法误差从性质上说来是方法的分析性能本身固有的缺陷所致，从数值上说并不因人而异，与操作误差有本质的差别。因此，加强对检验方法的方法学评价，透彻地掌握检验方法的分析特性，千方百计地减少方法误差，是检验工作者的重要任务。

2. 仪器误差：由仪器的技术性能不佳所产生的分析误差称为仪器误差。常见的有：

(1) 分析天平和砝码的计量性能不准确。据刘文虎调查，某地区 56 个实验室分度值为 0.1mg 的微量分析天平中，计量误差大于 $\pm 0.2\text{mg}$ (不合格) 者占 19/58，其中最大者达 +14.1mg。造成这种情况的根本原因是这些实验室，未能按照国家计量部门的有关规定定期对分析天平和砝码的计量性能进行校正。

(2) 在容量分析中，使用未经校准的移液管、加样器和容量瓶也会引入较大的实验误差。

作者用校正合格的吸量管 (+0.6 μl /100 μl ，1 级品) 和不合格的吸量管 (+7.7 μl /100 μl) 分别加样测定血清 γ -GT 活力，结果如表 1—1。

表 1—1 吸量管准确度对 γ -GT 测定值的影响

	20 次测定均值 (U/dl)	差值 (U/dl)	显著性检验
用合格吸量管加样 (+0.6 μl /100 μl)	154.35		
		11.87	t=16.084
用不合格吸量管加样 (+7.7 μl /100 μl)	166.22		P<0.001

上述实验中容量不合格的吸量管所加的血清量较标定准确的吸量管多 7.1 μl ，使酶活力的测定值高 11.87U/dl，统计学处理表明两者相差非常显著。提示吸量管容量准确性的校正正在临床化学分析中是不容忽视的。

现在实验室多用取样器进行加样，操作简便，节省时间，益处确实不少。但需要特别注意的是必须对其计量精度加以监测。根据作者的经验，目前，国产的取样器中，50 μl 容

量以上的其计量性能一般都比较良好,而 $10\mu\text{l}$ 、 $20\mu\text{l}$ 等微量取样器准确性较差。我们用称重法校正航空工业部北京青云仪器厂生产的金花牌 QYQ—5000 取样器(其标称值为 $5000\mu\text{l}$),实际容量为 $5019\mu\text{l}$ (5次均值),符合 I 级吸量管的质量标准。上海求精玻璃仪器厂生产的 $50\mu\text{l}$ 微量取样器,其实际排水量为 $49.58\mu\text{l}$ (5次均值),绝对误差 $0.42\mu\text{l}$,相对误差 0.84% ($<1\%$),达到 I 级吸量管的精度,而我们鉴定上海 $\times\times\times$ 厂生产的 $10\mu\text{l}$ 微量取样器,实际容量仅 $9.22\mu\text{l}$ (相对误差为 -7.8%), $20\mu\text{l}$ 微量加样器的实际容量为 $19.10\mu\text{l}$,相对误差 -4% ,两者的计量精度和 I 级吸管相对误差应 $<1\%$ 的要求相距甚远,也达不到说明书规定的出厂要求(相对精度 $<\pm 3\%$)。 $10\mu\text{l}$ 和 $20\mu\text{l}$ 微量取样器的技术性能严重地影响着临床化学实验室分析结果的准确度和精密度,也给临床生化质量控制工作带来了严重的干扰。因此建议有关研究单位和生产厂家,尽快研制生产高精度的微量取样器,为提高临床生化检验的质量作出新的贡献。目前,可以使用 $25\mu\text{l}$ (或 $50\mu\text{l}$)玻璃微量注射器(亦名微量取样器)对一些要求精度高的实验进行加样。因为据作者校正,一只 $25\mu\text{l}$ 标量的微量注射器的实际容量是 $25.06\mu\text{l}$,相对误差为 $+1.04\%$,基本符合 I 级吸量管的质量要求。也可将标准液和标本作 10 倍稀释后,用 I 级血清管常规加样(加 $100\mu\text{l}$ 或 $200\mu\text{l}$),定能做出较准确的测定结果。

(3) 在比色分析中,分光光度计波长不准确,杂散光水平过高和比色皿匹配不佳等因素是引起分析误差的另一大类重要原因。

我们用含有小鼠肾匀浆滤液作添加酶液制备的高值 γ -GT 质控血清,按常规方法测定其 γ -GT 活力,参照王玉琛推荐的方法,用锗钨滤光片校正 721 型分光光度计的入射光波长,达到了当透光度最小时波长读数应在 $585\pm 1\text{nm}$ 的要求,并选用比色皿间的差异在 $50\%T < \pm 0.5\%T$ 的四只比色皿进行比色,以消除比色皿之间的差异所造成的误差。实验中使用检定合格的 I 级微量吸管(误差为 $+0.6\mu\text{l}/100\mu\text{l}$)进行加样,以 520nm 波长(反应后呈色物质的最大吸收峰值)进行比色,求得该样品中酶单位的准确数值;随后即将比色波长调至 515nm 和 510nm (模拟分光光度计的入射光波长在 -5nm 和 -10nm 的误差),再次测定吸光度值,计算出相应的酶活力单位。本次实验中对此质控血清共进行 20 次活力测定。实验中制备的标准曲线线性良好(相关系数 $=0.9998$),酶活力单位是通过由此标准曲线数据建立的直线回归方程: $Y=0.01073+0.00412X$ 计算的。 520 、 515 和 510nm 波长下的相应的酶活力测定值为 154.65 、 149.29 及 143.05U/dl 。对此实验数据按照单因素分组的多个样本均数的比较方法进行统计学处理, $F=79.34$, $P<0.01$,表明波长误差在 5 及 10nm 时, γ -GT 的测定值就会有非常显著的差异。

(4) 其它生化检验仪器如 pH 计的电极和仪器自身的性能以及 pH 标准液的准确性存在较大问题时,也会影响分析结果,给测定带来一定的误差。

3. 试剂误差:使用不合格试剂和蒸馏水,可以引入系统误差。

(1) 标准品纯度的影响

作者使用纯化和未经纯化的胆红素作对照实验,以证实标准品纯度对测定值准确度的影响。胆红素参照 Henry 法纯化后,按常规方法配制成鉴定用的胆红素氯仿溶液,以氯仿调零, 10mm 光径比色皿,用 751G 紫外可见分光光度计比色(453nm),求得摩尔吸光系数为 61437.4 (在标准值 60700 ± 1600 范围内,纯度合格);同批未纯化胆红素的摩尔吸光系数为 56131 ($<$ 标准值下限 59100)。分别用此纯化和未纯化的胆红素标准品配制成血清总

胆红素测定用标准溶液,同批对6份胆红素含量高低不同的标本进行总胆红素定量测定,分别以纯化及未纯化胆红素标准液的吸光值计算结果,见表1—2。

表1—2 纯化与未纯化胆红素标准对样品总胆红素测定值的影响

标准液 (68.4 μ mol/L) 及样品之吸光度值 (平行复管均数)			样品中总胆红素测定值		差值 (μ mol/L)	显著性检验
			(μ mol/L)			
			按纯化标准 吸光度值计算 (1)	按未纯化标准 吸光度值计算 (2)	(2-1)	
纯化胆红素标准液 0.43						
未纯化胆红素标准液 0.381						
样 品	1 #	0.678	112.30	121.75	9.45	t=5.1955
	2 #	0.354	58.70	63.61	4.91	p<0.01
	3 #	0.515	85.33	92.51	7.18	
	4 #	0.203	33.69	36.42	2.73	
	5 #	0.840	139.19	150.82	11.63	
	6 #	0.392	64.98	70.45	5.47	

以上实验结果提示,如果用未经纯化的胆红素标准品做血清总胆红素的临床测定,将因标准管吸光度值低于合格标准品的吸光度,给样品测定值引入一个正的系统误差。

(2) 标准液浓度的影响:在脲氮酶法试剂盒(Berthelot法)鉴定中,工作人员将同批新打开的脲氮标准液与保存于冰箱冰盒内反复冻融多次使用的作了比较。实验结果显示新打开的脲氮标准液的吸光度为0.329,反复冻融多次使用的脲氮标准液的吸光度为0.301;用此两者分别计算同批样品测定值,反复冻融标准液吸光度计算值较新打开标准液的平均高2.8825mg/dl。经t检验两者的差异有非常显著的意义。在此需要补充说明的是,脲氮标准液虽然在-6℃冰箱冰盒内冷冻保存,但因反复解冻加样,难免发生微生物的酶对脲的水解作用,使其浓度降低,导致标准管吸光度降低,引入测定值正的系统误差。

表1—3 酶试剂受冻后对线性实验结果的影响

管 别	1	2	3	4
葡萄糖标准液 (5.55mmol/L) 加量 (μ l)	20	40	60	80
相应血浆葡萄糖浓度 (mmol/L)	5.55	11.10	16.65	22.20
受冻酶液测定吸光度 (复管均数)	0.197	0.351	0.481	0.573
相应葡萄糖浓度 (mmol/L)	5.55	9.89	13.55	16.14
+4℃保存良好酶液吸光度 (复管均数)	0.245	0.488	0.741	0.978
相应葡萄糖浓度 (mmol/L)	5.55	11.05	16.78	22.15