



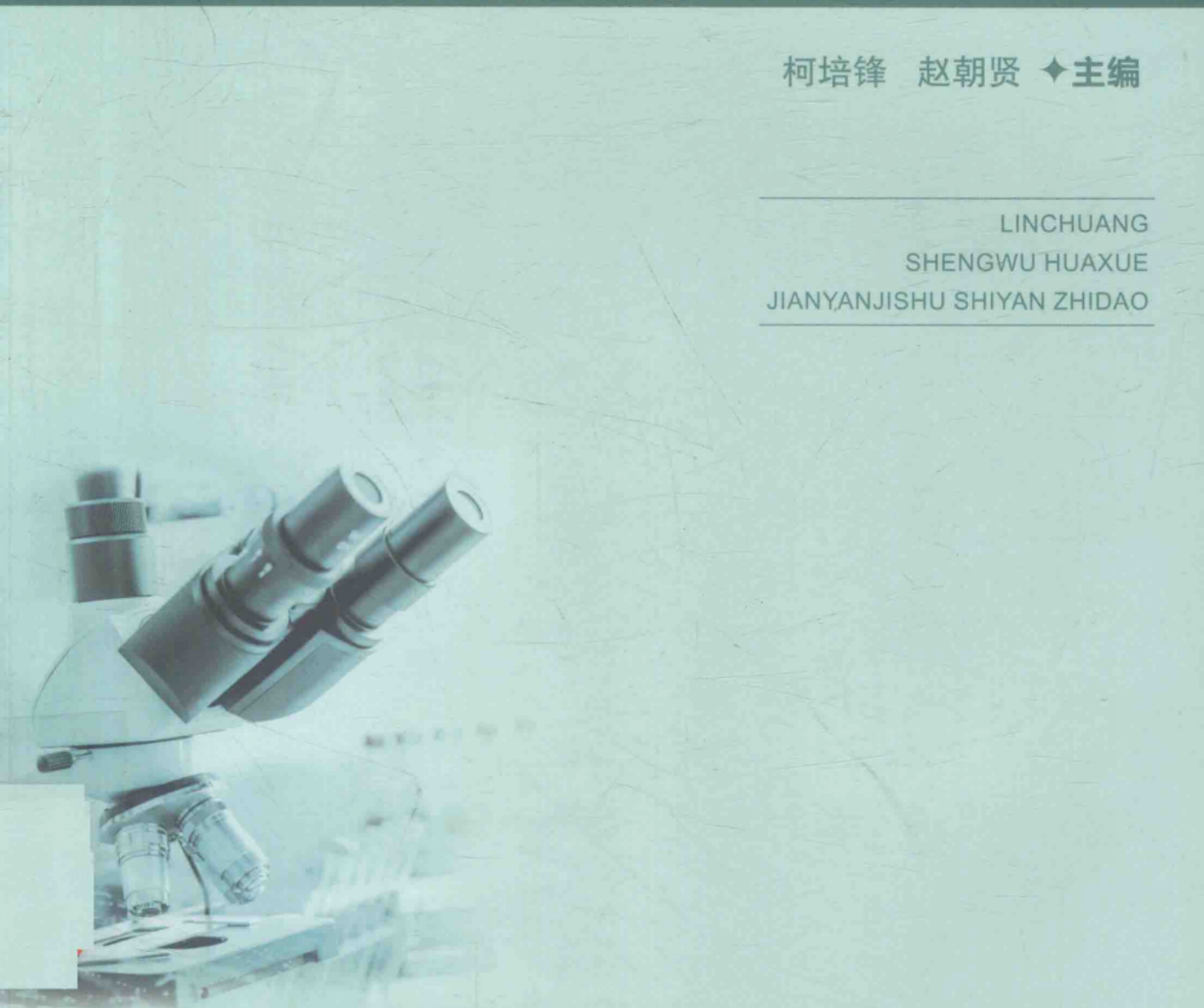
普通高等学校“十四五”规划医学检验技术专业特色教材

供医学检验技术等专业使用

临床生物化学检验技术 实验指导

柯培锋 赵朝贤 ◆主编

LINCHUANG
SHENGWU HUAXUE
JIANYANJISHU SHIYAN ZHIDAO



华中科技大学出版社

<http://www.hustp.com>

内 容 简 介

本书是普通高等学校“十四五”规划医学检验技术专业特色教材。

本书共 17 章,包括 86 个实验项目,如蛋白质及含氮化合物生物化学检验实验、糖代谢紊乱的生物化学检验实验、脂类代谢的生物化学检验实验等。

本书可供高等院校医学检验技术及相关专业学生使用,也适合作为医学检验技术人员的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

临床生物化学检验技术实验指导/柯培锋,赵朝贤主编. —武汉:华中科技大学出版社,2021.7
ISBN 978-7-5680-6848-2

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

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2021)第 123873 号

临床生物化学检验技术实验指导

柯培锋 赵朝贤 主编

Linchuang Shengwu Huaxue Jianyan Jishu Shiyao Zhidao

策划编辑:梅雯惠

责任编辑:丁平 梅雯惠

封面设计:原色设计

责任校对:曾婷

责任监印:周治超

出版发行:华中科技大学出版社(中国·武汉)

电话:(027)81321913

武汉市东湖新技术开发区华工科技园

邮编:430223

录 排:华中科技大学惠友文印中心

印 刷:武汉开心印印刷有限公司

开 本:889mm×1194mm 1/16

印 张:14

字 数:416千字

版 次:2021年7月第1版第1次印刷

定 价:39.00元



华中科大

本书若有印装质量问题,请向出版社营销中心调换

全国免费服务热线:400-6679-118 竭诚为您服务

版权所有 侵权必究

普通高等学校“十四五”规划医学检验技术专业特色教材建设指导委员会

主任委员 徐克前 康熙雄

副主任委员 岳保红 龚道元 周芙玲 王小林 赵建宏 贾天军 李玉云

编委(按姓氏笔画排序)

王小林	北京大学医学部	岳保红	郑州大学
王俊利	右江民族医学院	周芙玲	武汉大学
权志博	陕西中医药大学	郑文芝	海南医学院
吕厚东	济宁医学院	赵建宏	河北医科大学
任伟宏	河南中医药大学	胡志坚	九江学院
伊正君	潍坊医学院	袁忠海	吉林医药学院
闫海润	牡丹江医学院	贾天军	河北北方学院
纪爱芳	长治医学院	徐霞	广州医科大学
李玉云	蚌埠医学院	徐广贤	宁夏医科大学
李树平	湖南医药学院	徐克前	中南大学湘雅医学院
余蓉	成都中医药大学	徐菲莉	新疆医科大学
张式鸿	中山大学	高荣升	佳木斯大学
张红艳	河北工程大学	陶华林	西南医科大学
陈大鹏	重庆医科大学	黄泽智	邵阳学院
林东红	福建医科大学	龚道元	佛山科学技术学院
欧阳丹明	湘南学院	康熙雄	首都医科大学

总 序

ZONGXU

近年来,随着科学技术的进步、大量先进仪器和技术的采用,医学检验得到飞速的发展。各种新的检验技术不断涌现,对临床疾病的诊疗越来越重要,作用越来越突出,为人类疾病的诊断、治疗监测、预后判断提供大量新的实验室监测指标。据统计,临床实验室提供的医学检验信息占患者全部诊疗信息的60%以上,医学检验已成为医疗的重要组成部分,被称为临床医学中的“侦察兵”。

《国家中长期教育改革和发展规划纲要(2010—2020年)》《国家中长期人才发展规划纲要(2010—2020年)》要求全面提高高等教育水平和人才培养质量,以更好地满足我国经济社会发展和创新型国家建设的需要。根据《教育部关于进一步深化本科教学改革 全面提高教学质量的若干意见》,在教材建设过程中,教育部鼓励编写、出版适应不同类型高等学校教学需要的不同风格和特色的教材;积极推进高等学校与行业合作编写教材;鼓励编写和出版不同载体和不同形式的教材,包括纸质教材和数字化教材。2012年教育部制定的新本科专业目录中,将医学检验专业更名为医学检验技术专业,学制由五年改为四年。

为了更好地适应医学检验技术专业的教学发展和需求,体现最新的教学理念和特色,在认真、广泛调研的基础上,在医学检验技术专业教学指导委员会相关领导和专家的指导和支持下,华中科技大学出版社组织了全国40多所医药院校的200多位老师参加了本套教材的编写。本套教材由国家级重点学科的教学团队引领,副教授及以上职称的老师占80%,教龄在20年以上的老师占72%。教材编写过程中,全体参编人员进行了充分的研讨,各参编单位高度重视并大力支持教材的编写工作,各主编及参编人员付出了辛勤的劳动,确保了本套教材的编写质量。

本套教材着重突出以下特点:

(1) 教材定位准确,体现最新教学理念,反映最新教学成果。紧密联系最新的教学大纲和临床实践,注重基础理论和临床实践相结合,体现高素质复合型人才培养的要求。

(2) 适应新世纪医学教育模式的要求,注重学生的临床实践技能、初步科研能力和创新能力的培养。突出实用性和针对性,以临床应用为导向,同时反映相关学科的前沿知识和发展趋势。

(3) 以问题为导向,导入临床案例。通过案例与提问激发学生学习的热情,以学生为中心,有利于学生主动学习。

(4) 纸质与数字融合发展。全套教材采用全新编写模式,以扫描二维码形式帮助老师及学生在移动终端共享优质配套网络资源,通过使用华中科技大学出版社数字化教学资源平台将移动互联网、网络增值、慕课等新的教学理念和学习方式融入教材建设中,开发多媒体教材、数字化教材等新媒体教材形式。

本套教材得到了教育部高等学校医学技术类教学指导委员会和中国医师协会检验医师分会相关领导和专家,以及各院校的大力支持与高度关注,我们衷心希望这套教材能为高等医药院校医学检验技术专业教学及人才培养做出应有的贡献。我们也相信这套教材在使用过程中,通过教学实践的检验和实际问题的解决,能不断得到改进、完善和提高。

普通高等学校“十四五”规划医学检验技术专业特色教材
建设指导委员会

前 言

QIANYAN

《临床生物化学检验技术实验指导》是韩瑞教授主编的《临床生物化学检验》的配套实验教材，是在李雅江、赵朝贤教授主编的《临床生物化学检验实验》的基础上更名、修订和编写的。新版教材从内容到形式都体现“更新、更精”，加强与临床的结合；既能反映本学科的前沿知识和发展趋势，又能紧紧围绕人才培养目标的实际需要。本教材适合医学检验技术专业五年制本科、四年制本科和三年制专科学学生及成人教育的实验教学使用。

本教材的编写遵循医学检验技术专业培养目标，并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科研能力的初步培养，同时体现简洁、实用的指导思想。教材编写以生物化学检验技术内容为主线，分 17 章，共 86 个实验，每个实验包括实验目的、背景、实验原理、试剂与器材、操作步骤、结果计算、参考区间、注意事项、临床意义、评价、思考题。实验内容力求与临床融合。其中最后一章是临床生物化学检验综合与设计创新实验，可供学有余力的学生进行课外练习。所选实验项目内容新、技术全、剪表性强、实用性强，不仅能节省课时，还能提高实验效果。

本教材的编写得到了华中科技大学出版社的支持和指导，得到了广州中医药大学、河北工程大学医学院、浙江中医药大学、河北北方学院、河北医科大学、蚌埠医学院、成都中医药大学、潍坊医学院、包头医学院、川北医学院、中山大学、广东医科大学等全国十几所高等医药院校的热情关心和支持，同时得到许多检验医学界老教授的指点和帮助，在此一并表示衷心的感谢。尽管编委们都已尽了最大的努力，但由于检验医学发展迅速，内容涉及广泛，加之编者水平有限，书中难免存在疏漏和不当之处，恳请使用本教材的广大读者提出宝贵意见。

编 者

目 录

MULU

第一章 临床生物化学实验室基本知识	/1
第一节 临床生物化学实验室的使用规则	/1
第二节 临床生物化学实验室安全防护基本知识	/1
第三节 玻璃量器的使用	/3
第四节 微量加样器的使用	/4
第五节 实验室用水要求	/5
第六节 化学试剂的制备、使用及其安全	/8
第七节 实验室常用仪器设备的使用与维护	/10
第八节 临床生物化学检验实验报告的书写	/13
第九节 实验误差与数据处理	/14
第十节 离心机的使用与维护	/17
第二章 蛋白质及含氮化合物生物化学检验实验	/18
实验一 双缩脲法测定血清总蛋白	/18
实验二 溴甲酚绿法测定血清白蛋白	/20
实验三 醋酸纤维素薄膜电泳法测定血清蛋白质	/22
实验四 聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定血清、尿液蛋白质	/25
实验五 尿酸酶-过氧化物酶偶联法测定血清尿酸	/27
第三章 糖代谢紊乱的生物化学检验实验	/30
实验一 葡萄糖氧化酶法测定血清(浆)葡萄糖	/30
实验二 己糖激酶法测定血清(浆)葡萄糖	/32
实验三 口服葡萄糖耐量试验	/33
实验四 免疫比浊法测定 HbA _{1c}	/35
实验五 果糖胺法测定糖化白蛋白	/36
实验六 微柱法分离糖化血红蛋白	/38
第四章 脂类代谢的生物化学检验实验	/40
实验一 免疫透射比浊法测定血清脂蛋白(a)	/40
实验二 免疫透射比浊法测定血清载脂蛋白 AI 和 载脂蛋白 B ₁₀₀	/42
实验三 磷酸甘油氧化酶法测定血清(浆)甘油三酯	/43
实验四 胆固醇氧化酶法测定血清(浆)总胆固醇	/45
实验五 均相法测定血清高密度脂蛋白-胆固醇	/47
实验六 表面活性剂清除法测定血清(浆)低密度 脂蛋白-胆固醇	/49
第五章 电解质与酸碱平衡的生物化学检验实验	/52
实验一 离子选择性电极电位法测定血清钾、钠、氯、钙离子	/52
实验二 血气分析	/54
第六章 微量元素与维生素的生物化学检验实验	/56
实验一 吡啶偶氮酚比色法测定血清锌	/56

实验二	双环己酮草酰二胺比色法测定血清铜	/58
实验三	三氯化锑比色法测定维生素 A	/60
实验四	荧光光度法测定维生素 E	/62
实验五	直接碘量法测定维生素 C	/63
第七章	肝胆疾病的生物化学检验实验	/66
实验一	连续监测法测定血清谷丙转氨酶	/66
实验二	赖氏法测定血清谷丙转氨酶	/68
实验三	过氧化物酶反应的连续监测法测定腺苷脱氨酶	/71
实验四	色素原底物反应的连续监测法测定 γ -谷氨酰基转移酶	/73
实验五	酶法测定血浆氨	/75
实验六	改良 J-G 法测定血清总胆红素和结合胆红素	/77
实验七	胆红素氧化酶法测定血清总胆红素和结合胆红素	/80
实验八	酶循环法测定血清总胆汁酸	/82
第八章	肾脏疾病的生物化学检验实验	/85
实验一	去蛋白碱性苦味酸法测定血清肌酐	/85
实验二	碱性苦味酸速率法测定血清肌酐	/87
实验三	肌氨酸氧化酶法测定血清肌酐	/88
实验四	脲酶-谷氨酸脱氢酶偶联速率法测定血清尿素	/89
实验五	脲酶-波氏比色法测定血清尿素	/91
实验六	内生肌酐清除率的测定	/92
实验七	免疫透射比浊法测定血清胱抑素 C	/93
实验八	免疫比浊法测定血(尿) β_2 -微球蛋白	/94
实验九	免疫透射比浊法测定尿微量白蛋白	/95
第九章	心血管疾病的生物化学检验实验	/97
实验一	酶偶联紫外连续监测法测定血清肌酸激酶	/97
实验二	免疫抑制法测定血清肌酸激酶同工酶 CK-MB	/99
实验三	酶循环法测定血清同型半胱氨酸	/101
实验四	免疫透射比浊法测定血清 C 反应蛋白	/103
实验五	电化学发光免疫分析法测定心肌肌钙蛋白 T	/105
实验六	ELISA 法测定 BNP	/107
实验七	琼脂糖凝胶电泳法测定乳酸脱氢酶同工酶	/110
第十章	内分泌疾病的生物化学检验实验	/113
实验一	时间分辨荧光免疫分析法测定血清生长激素	/113
实验二	电化学发光法测定血清催乳素	/115
实验三	ELISA 法测定血清促甲状腺激素	/117
实验四	尿 17-酮类固醇、尿 17-羟皮质类固醇测定	/119
实验五	化学发光法测定血清雌二醇	/123
第十一章	消化系统疾病的生物化学检验实验	/126
实验一	连续监测法测定血清(浆)淀粉酶	/126
实验二	比浊法测定血清脂肪酶	/127
实验三	滴定法测定胃酸分泌	/129
第十二章	治疗药物监测的生物化学检验实验	/131
实验一	化学发光酶免疫法测定血清地高辛	/131

实验二	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	/133
实验三	双波长比色法测定血清茶碱	/135
实验四	荧光偏振免疫法测定全血环孢素 A	/138
第十三章	骨代谢的生物化学检验实验	/141
实验一	邻甲酚酞络合酮法测定血清总钙	/141
实验二	离子选择性电极电位法测定钙离子	/143
实验三	甲基麝香草酚蓝法测定血清镁	/144
实验四	电化学发光法测定血清降钙素	/146
实验五	还原钼蓝法测定血清磷	/148
实验六	乙酰胆碱酯酶抑制法测定有机磷	/149
实验七	连续监测法测定血清碱性磷酸酶	/151
第十四章	神经及精神疾病的生物化学检验实验	/154
实验一	放射免疫法测定血浆 P 物质	/154
实验二	生物发光法测定血清 γ -氨基丁酸	/156
第十五章	妊娠与相关疾病的生物化学检验实验	/158
实验一	免疫层析双抗体夹心法测定人绒毛膜促性腺激素	/158
实验二	化学发光法测定血清孕酮	/159
第十六章	临床生物化学检验综合应用实验	/162
第一节	检测系统性能评价实验	/162
实验一	精密度评价	/162
实验二	准确度评价	/164
实验三	线性范围评价	/170
实验四	检测低限评价	/173
实验五	携带污染	/174
第二节	临床生物化学检验的质量控制	/177
实验一	室内质量控制实验	/177
实验二	室间质量评价实验	/180
第十七章	临床生物化学检验综合与设计创新实验	/183
实验一	溶血、黄疸、脂血对血清肌酐测定的干扰评价	/183
实验二	酶的分离纯化与酶动力学分析实验	/184
实验三	胆固醇基质效应的制备与分析	/194
实验四	1 型糖尿病的综合性实验	/196
实验五	急性病毒性肝炎的综合性实验	/198
实验六	急性肾小球肾炎的综合性实验	/201
实验七	急性心肌梗死的综合性实验	/202
实验八	急性胰腺炎的综合性实验	/203
附录 A	临床生物化学检验常用术语英文及缩写	/206
附录 B	Grubbs 检验临界值 $G_{\alpha,n}$	/211
	主要参考文献	/212

第一章 临床生物化学实验室基本知识

临床生物化学实验室是培养学生科学、严谨的学习态度和工作作风,学习临床生物化学检验技术的基本知识,训练并掌握临床生物化学检验基本技术和基本技能的重要场所。对实验室基本知识的熟悉和掌握是做好临床生物化学检验实验的重要基础。本章涉及的实验室基本知识主要包括:实验室的使用规则,实验室生物安全的基本知识,玻璃容器及移液器的使用,实验用水要求,化学试剂的制备、使用及其安全,实验室常用仪器设备的使用与维护,实验报告的书写,实验误差与数据处理,离心机的使用与维护。这些实验室基本知识的掌握将为后续内容的学习奠定基础。

第一节 临床生物化学实验室的使用规则

(1)学生实验前必须预习实验内容及相关理论,明确实验目的与要求,掌握实验的基本原理,熟悉实验操作步骤和注意事项,分析预期实验结果。在预习操作步骤时,应认真仔细,必要时应明白每一个步骤的意义,了解所用仪器的使用方法及注意事项。

(2)学生进入实验室时必须穿戴好实验服,保持室内安静,禁止在室内大声喧哗和随意走动,禁止将与实验无关的物品带入实验室,保持良好的课堂秩序。

(3)实验过程中,听从老师指导,严格按照操作规程进行操作,认真对待实验过程中的每一项基本技能训练。注意观察实验现象,真实记录实验结果。实验完毕后,对实验所得结果和数据,及时进行整理、分析和计算,认真并按时完成实验报告。在实验的操作和实验报告书写的过程中,应注重培养科学的思维方法,树立牢固的质量观念和意识,善于总结实验中的经验和教训。

(4)吸取试剂、标准液(或校准液)和样品时,使用洁净的吸量管或微量移液器吸头,以避免对试剂、标准液(或校准液)和样品造成污染。取完试剂后,应及时将瓶盖盖好,切勿错盖,公用试剂用完后放回原处,以便其他同学取用。注意节约试剂、药品、水、电和其他物品,避免不必要的人为浪费。

(5)保护实验台,不得将高温物品放在实验台面上,勿使试剂和药品倾洒于实验台面和地面上。器材损坏时,需及时向老师报告,并填写器材损坏登记表,学期结束时按有关规定进行处理。

(6)加热,用电,使用有毒、有害或腐蚀试剂时应注意安全操作,避免事故的发生。

(7)实验完毕,及时清洗并整理自己所用的实验器材,清理自己的实验台面,固体废弃物(如用过的滤纸、电泳用凝胶条等)切勿倒入水槽内,以免堵塞。值日生负责实验室的卫生和水、电等的安全检查工作。值日完毕后,经老师检查许可后方可离开。

鉴于临床生物化学检验是医学检验技术专业的一门重要的专业课程,也是一门理论性和实践性均较强的课程,学生应高度重视临床生物化学检验实验课程的学习,严格遵守临床生物化学检验实验室的规则,并将其贯彻于每次实验过程中。学生只有经过严格的训练,才能不断提高自身运用知识的能力、发现问题和解决问题的能力,同时养成良好的习惯,最终成为具有一定理论基础和熟练操作技能的医学检验人才。

第二节 临床生物化学实验室安全防护基本知识

临床实验室的特殊环境使得实验操作者经常面临一些安全隐患,包括各种污染和操作风险,因此必须重视实验室的安全防范工作。实验室的主要危害源有生物、化学和物理三大类,实验室的安



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

临床实验室每天要处理来自临床的标本,这些已知或未知疾病的临床标本构成了潜在的生物传染源,因而实验室工作人员每天都面临生物安全隐患。因此,普及实验室生物安全的基本知识至关重要。

(一) 实验室生物安全的相关概念

1. 生物危害 各种生物因子对人、环境和社会造成的危害或潜在的危害。

2. 实验室生物安全 在实验室从事实验活动中,为避免病原体或毒素对工作人员和相关人员产生危害,对环境造成污染和对公众造成伤害,保证实验研究的科学性并保护被实验对象免受污染而采取的措施。

实验室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被处理完成结束。

(二) 生物安全防护

生物安全防护是指在实验室环境下处理和存放感染性物质的过程中采用的一系列防护措施。根据生物因子的危害程度和采取的防护措施,通常将生物安全防护划分为四个等级。临床生物化学检验实验涉及的生物安全等级多为一级,这类实验的实验人员只要经过基本的实验室知识培训和指导即可在实验室进行实验,不需要有特殊的安全防护措施。

临床生物化学检验常用的人体标本有血液、尿液、脑脊液等,其中以血液标本最为常用,这些临床标本都是潜在生物传染源,在实验操作过程中应加以防范,做好防护。防范和防护的一般要求和措施主要包括:①实验室工作区内绝对禁止吸烟;吸烟过程有可能传染疾病和接触毒物。点燃的香烟是易燃液体的潜在火种。②实验工作区内不得有食物、饮料及存在“手-口”接触可能的其他物质。实验室工作区内的冰箱禁止存放食物。专用存放食物的冰箱应放置于允许进食、喝水的清洁休息区内。③处理毒性或腐蚀性物质时,须使用安全镜或其他保护眼睛和面部的防护用品。④所有人员在实验区内必须穿着工作服,工作服应干净、整洁。⑤不得在实验室内穿露脚趾的鞋子,应穿舒适、防滑,并能保护整个脚面的鞋。⑥头发不得垂肩,留长发的人员应将头发盘在脑后或用一次性发套保护头发,以防止头发接触到被污染物和避免人体头皮屑落入实验区。⑦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。如不慎污染皮肤、衣物或台面,应及时清洗并消毒。如有传染性物质溅入黏膜,应立即用专用装置清洗,再用滴眼液或漱口液清洗并向有关负责人报告。⑧在进行可能直接或意外接触具有潜在感染性的材料或感染性动物的操作时,应戴上合适的手套。手套用完后,应先消毒再摘除,随后必须洗手。⑨实验完毕后,剩余的血标本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。其他感染性废物和器材(如针头、解剖刀和碎玻璃等锐利物品)应放置于指定容器(如锐器盒)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。⑩离开实验室前,必须洗手。严禁穿着实验服去餐厅、图书馆等非实验场所。

临床生物化学实验室安全除生物安全外,还包括化学安全,用水、用电和消防等其他安全。

二、化学安全

临床生物化学实验室内的部分化学试剂具有易燃性、可燃性、刺激性、腐蚀性或剧毒性等危害。应用这些化学试剂时应注意以下几点:①使用强酸、强碱试剂时,必须戴防酸、防碱手套,小心操作,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。强碱触及皮肤而引起灼伤时,首先用大量自来水冲洗,再用2%或5%乙酸溶液涂洗。强酸、溴等试剂触及皮肤而致灼伤时,立即用大量自来水冲洗,再以5%碳酸氢钠溶液或5%氢氧化铵溶液洗涤。酚类试剂触及皮肤引起灼伤时,首先用大量自来水冲洗,然后用肥皂和水洗涤,忌用乙醇冲洗和洗涤。②使用可燃物,特别是易燃物(如乙醇、乙醚、丙酮、苯等)时,应避免靠近火源。低沸点的有机溶剂



NOTE

禁止在明火上直接加热。③实验产生的废液应倒入指定容器内,尤其强酸和强碱不能直接倒入水槽中,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。⑤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。⑥所有化学危险品的容器都应有清晰标记,应有材料安全数据表显示每一种化学危险物品的特性。

三、其他安全

应注意:①首次进入实验室开始实验前,应了解电闸、水阀所在处。离开实验室时要认真进行安全检查。应做到人走关水、断电、关窗、关门。②实验中出现任何不正常的现象,必须立即切断电源,待查明原因,排除故障后再恢复实验。非工作需要不得使用明火。严禁拆、接带线路,任何人不得进行危及他人人身和设备安全的操作。③使用电器设备(如烘箱、恒温水浴箱、离心机、电炉等)时,严防触电。绝不可用湿手开关电闸和电器开关。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,并将液体转移到大的容器中,然后再倒入带塞的玻璃瓶中。④实验中一旦发生火灾应保持镇静,不可惊慌失措。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。

四、实验室急救箱配备

实验室应配备急救箱以便在烧伤、烫伤、化学伤等发生后进行紧急现场处理,减少对实验人员的伤害,从而起到保护实验室的师生人身安全与财产安全的双重重要作用。急救箱内应配备碘伏消毒液、清洁湿巾、医用酒精棉球、医用脱脂棉球、双氧水、硼酸溶液、碳酸氢钠溶液、创可贴、医用弹性绷带、医用纱布块、三角绷带、医用透气胶带、止血带、烧伤敷料、洗眼液、瞬冷冰袋、呼吸面罩、急救毯、医用橡胶检查手套、医用防护口罩、化学护目镜、镊子、安全别针、圆头剪刀、手电筒、高频救生哨、急救手册、急救知识光盘等。

第三节 玻璃量器的使用

量器是指对液体体积进行计量的器皿,实验室常用的玻璃量器有量筒、容量瓶、滴定管、移液管、刻度吸量管等,是否规范使用直接影响实验结果的准确度。

一、量筒

量筒是实验室中常用的度量液体的量器,用于不太精密的液体计量。应根据需要选用各种不同容量规格的量筒。例如量取 9.0 mL 液体时,应选用 10 mL 量筒(测量误差为 ± 0.1 mL);如果选用 100 mL 量筒量取 9.0 mL 液体体积,则至少有 ± 1 mL 的误差。量筒不能用作反应容器,不能装热的液体,更不可对其进行加热。读取量筒的刻度值时,一定要使视线与量筒内液面的最低点(半月形弯曲面)处于同一水平线上,否则会增大测量误差。

二、容量瓶

容量瓶是一种细颈梨形的平底瓶,瓶颈上有环形标线,表示在所指温度下(一般为 20 °C)液体充满至标线时的容积,是常用的测量容纳液体体积的一种量入式量器,主要用途是配制准确浓度的溶液或定量地稀释溶液。容量瓶与瓶塞要配套使用,使用前应检查是否漏水。另外,容量瓶不能在烘箱中烘烤,不能以任何形式对其进行加热。

三、吸量管

吸量管是临床生物化学实验中最常用的玻璃量器,测定结果的准确度与吸量管的使用密切



相关。

1. 吸量管的种类 常分为以下三类。

(1) 奥氏吸量管: 供准确量取 0.5 mL、1 mL、2 mL、3 mL、4 mL、5 mL、10 mL 等固定量的溶液。这种吸量管中间膨大部分呈球形或橄榄形, 只有一个总量标线, 放液时必须吹出残留在吸量管尖端的液体。

(2) 移液管: 供准确量取 5 mL、10 mL、25 mL、50 mL 等固定量的溶液。与奥氏吸量管一样, 此吸量管上也只有一个总量标线, 但放液后, 将吸量管尖在容器内壁上继续停留 15 s, 注意不要吹出尖端最后的部分液体。它的造型类似于奥氏吸量管, 但中间膨大部分呈长圆柱形, 也是一种准确度较高的吸量管。

(3) 刻度吸量管: 具有分刻度的吸量管, 准确度较奥氏吸量管和移液管略低。常用的有 0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL、5.0 mL、10 mL 等几种规格。一般刻度吸量管可分为完全流出式和不完全流出式两种。完全流出式刻度吸量管的上端常标注有“吹”字, 刻度包括尖端部分, 欲将所量液体全部放出时, 应将管尖端残留的液体吹入承接溶液的器皿中。不完全流出式刻度吸量管的刻度不包括吸量管的最下端部分, 只需将管内液体自然放出, 不必吹出管尖的残留液体。

2. 吸量管的使用

(1) 选择: 使用前先根据需求选择合适规格的吸量管, 刻度吸量管的总容量最好等于或稍大于取液量。临用前要看清容量和刻度。

(2) 执管: 用右手拇指和中指(辅以无名指)持吸量管上部, 用食指堵住上口并控制液体流速, 刻度数字要对准自己。

(3) 取液: 用另一只手捏压橡皮球, 将吸量管插入液体中(不得悬空, 以免液体吸入球内), 用橡皮球将液体吸至最高刻度上端 1~2 cm 处, 然后迅速用食指按紧管上口, 使液体不至于从管下口流出。

(4) 调准刻度: 将吸量管提出液面(注意: 吸取全血、血清和血浆等黏性较大的液体时, 需用滤纸擦干管尖外壁), 然后用食指控制液体缓慢下降至所需刻度(此时液体凹液面、视线和刻度应在同一水平面上), 并立即按紧吸量管上口。

(5) 放液: 放松食指, 使液体自然流入受器内, 放液时管尖最好接触受器内壁, 但不要插入受器内原有的液体中, 以免污染吸量管和试剂。

(6) 洗涤: 吸血液、血清等黏稠液体的吸量管, 使用后要及时用自来水冲洗干净, 最后用蒸馏水冲洗, 晾干备用。

第四节 微量加样器的使用

微量加样器(移液器)是一种用于定量转移液体的器具, 具有使用方便、维护简便、体积小、携带方便等优点, 被广泛用于生物、化学等领域中。其吸入量是否准确和使用方法是否得当, 可直接影响测定结果的准确度。

一、微量加样器的使用方法

1. 容量设定 微量加样器有固定式和可调式两种。对于可调式微量加样器, 需要用选择旋钮将容量调至所需容量刻度上。该过程中千万不要将旋钮旋出量程, 否则会卡住内部机械装置而损坏移液器。

2. 安装吸头 将移液器下端垂直插入吸头, 稍微用力左右微微转动即可。

注意安装吸头时用力不可过猛, 否则会导致内部零部件松散, 甚至会导致调节刻度的旋钮卡死或造成移液器套柄弯曲。



NOTE

3. 润洗吸头(预洗吸头) 安装了新吸头或增大了容量值以后,应该把需要转移的液体吸取、排放 2~3 次,这样做是为了让吸头内壁形成一道同质液膜,确保移液工作的精准度,使整个移液过程具有极高的重现性。其次,在吸取有机溶剂或高挥发性液体时,挥发性气体会在套筒室内形成负压,从而产生漏液的情况,这时需要预洗 4~6 次,让套筒室内的气体达到饱和,负压就会自动消失,可有效防止漏液。

4. 吸液 吸液有 2 种方式:正向吸液、反向吸液。

(1)正向吸液:正常的吸液方式,操作时将按钮按到第一挡,再将吸头垂直浸入液面下 1~6 mm 深度(视移液器容量大小而定:0.1~10 μL 时 1~2 mm;2~200 μL 时 2~3 mm;0.2~5 mL 时 3~6 mm),缓慢释放按钮。放液时先按下第一挡,打出大部分液体,再按下第二挡,将余液排出。

(2)反向吸液:指吸液时将按钮直接按到第二挡再释放,这样会多吸入一些液体,打出液体时只要按到第一挡即可。多吸入的液体可以补偿吸头内部的表面吸附,反向吸液一般适用于黏稠液体、易挥发液体和小体积的移液。

5. 排液 有 3 种排液方式:沿内壁排液、在液面上方排液、在液面下方排液。以下为通常的“沿内壁排液”的操作步骤。

(1)将吸头口贴到容器内壁并保持 $10^{\circ}\sim 40^{\circ}$ 倾斜,平稳地将按钮压到一挡,略停后,压到二挡排出剩余液体;排放致密或黏稠液体时,停留时间稍长些。

(2)压住按钮,同时提起移液器,使吸头贴容器壁拿出。

(3)松开按钮。

6. 卸去吸头 稍用力按下吸头推出器,即可卸掉吸头。如吸头安装过紧,可用手卸除。将吸头丢弃到合适的废物收集器中。

二、微量加样器使用时的注意事项

(1)微量加样器是精密量器,不允许将微量加样器直接与液体接触,不使用时,也应插上洁净的塑料吸液嘴,以免液体或杂质吸入管内,导致阻塞。吸液嘴与吸液杆的连接必须紧密,以免液体漏出或取液不准。

(2)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 2~3 次。湿化前后实际容量和排出量均有显著差异。另外,有些新购的吸液嘴是经过硅化的,这有利于减少液体的吸附。对使用时间较长、外观有明显“花纹”或透明度降低者应弃掉不用。

(3)要保证在整个吸液过程中,吸头尖端一直处于液面之下,以防止吸空造成吸样不准确。

(4)吸取液体完成后和排出液体之前,一定要擦去吸头四周的液体,特别是在取液量较少时要注意这一点。但要防止接触吸头尖端。

(5)吸取液体和排出液体的动作一定要慢,因为动作过快时,液体因表面张力吸附在吸头壁上,造成移液不准。所取液体的黏度越高,越应注意这个问题。

(6)排出液体过程中,在液体将排尽时,要轻轻让吸头尖端接触容器壁,以免在加样的容器中形成气泡,影响后续反应。

(7)使用完毕,应把量程调至最大值的刻度处,使弹簧处于松弛状态保护弹簧以延长微量加样器的使用寿命。

第五节 实验室用水要求

水是实验室内一个常常被忽略但至关重要的基本试剂,也是常用的溶剂。仪器、玻璃器皿的洗涤,样品的稀释,试剂的配制等实验室内的每一项工作都离不开水。实验用水的质量直接影响检验结果的准确度。



NOTE

一、实验室常见用水的制备方法

天然水中含有很多杂质,天然水经简单的物理、化学方法处理,除去悬浮物质和部分无机盐即得到自来水。自来水经蒸馏、离子交换层析、电渗析等处理,进一步除去杂质,即成实验用纯水。杂质除去得越彻底,水的纯度越高,质量就越好。一般认为,实验用水纯度越高,实验结果越真实可靠,因此,必须保证实验用水的质量。实验用水的制备方法通常包括以下几种。

(一) 蒸馏法

自来水(或去离子水)在蒸馏器中加热汽化后,将水蒸气冷凝得到的冷凝水即为蒸馏水。制备蒸馏水时,最好用去离子水作为水源,因为以自来水作为水源可产生水垢。蒸馏水是实验室中最常用的洗涤用水和溶剂,但蒸馏水并非绝对的纯水,因为蒸馏法只能除去水中非挥发性的物质,并不能除去溶解于水中的气体,而且在蒸馏的过程中,一些杂质会不可避免地进入水蒸气中。蒸馏水的纯度标准是 $1 \times 10^5 \Omega/\text{cm}$ 左右。为了提高水的纯度,可进行二次或多次蒸馏,故蒸馏水按蒸馏次数可分为一蒸水、二(双)蒸水和三蒸水等。从经济角度讲,该法存在耗水量大、用电成本高等弊端。

(二) 离子交换层析法

离子交换层析法是将自来水通过离子交换柱以除去水中阴、阳离子的方法。该法制备的纯水称为去离子水。离子交换柱内装有离子交换树脂,根据树脂可交换基团的不同,离子交换树脂可分为阳离子交换树脂和阴离子交换树脂。当水通过阳离子交换树脂时,水中的阳离子可与树脂中的酸性基团进行交换;当水通过阴离子交换树脂时,水中的阴离子可与树脂中的碱性基团进行交换。本法一般采用阴、阳离子交换树脂的混合床装置。该法去离子能力强,制备的纯水阴、阳离子浓度可以很低,25℃时的电阻率可达 $5 \times 10^6 \Omega/\text{cm}$ 以上,但该法不能除去有机物等非电解质杂质。有机物杂质可能干扰生化实验中的某些反应,也会使水的紫外吸收值增加,所以该法制备的纯水不适用于紫外吸收法进行测定的实验。

(三) 电渗析法

电渗析法也称电渗透法,是在外电场的作用下,利用阴、阳离子交换膜使溶液中的离子选择性透过而使杂质离子从水中分离出来。该法除去杂质的效率比较低,制备纯水的电阻率一般在 $10^4 \sim 10^5 \Omega/\text{cm}$,常作为一种预处理手段。

(四) 超滤膜法

该法是采用超滤膜以除去水中悬浮物的方法,此法制备的水须进一步纯化。

(五) 活性炭吸附法

活性炭是广谱吸附剂,可吸附水中的气体成分、细菌、有机物和某些金属等。活性炭吸附法可作为制备纯水配套的一种预处理方法。

(六) 混合纯化系统制备法

目前大多采用本法制备纯水,其基本方法是采用滤膜预处理天然水或自来水,结合活性炭吸附和离子交换剂处理,最后以孔径为 $0.45 \mu\text{m}$ 的滤膜除去微生物。该方法可获得高纯度的纯水。

二、实验室用水等级划分

1995年,国际标准化组织(International Organization for Standardization, ISO)将纯水分三个级别:一级水、二级水和三级水,并制定了不同级别纯水的标准(表1-1)。2008年根据我国国情,国家质量监督检验检疫总局修订并发布我国《分析实验室用水规格和试验方法》(GB/T 6682—2008)。该标准对我国分析实验室用水进行了规范,并将其分为三个等级(表1-2)。

表 1-1 国际标准化组织的实验室纯水标准 (ISO 3696:1995)

特性指标	I 级	II 级	III 级
pH(25 °C)	—	—	5.0~7.5
电导率($\mu\text{S}/\text{cm}$, 25 °C)	≤ 0.1	≤ 1.0	≤ 5.0
蒸发残渣(mg/kg , 110 °C)	—	≤ 1.0	≤ 2.0
SiO ₂ 最大量/(mg/L)	0.01	0.02	—
最大耗氧量/(mg/L)	—	0.08	0.4
最大吸光度(254 nm, 1 cm 比色皿)	0.001	0.01	—

表 1-2 分析实验室用水规格 (GB/T 6682—2008)

特性指标	I 级	II 级	III 级
外观	无色透明	无色透明	无色透明
pH(25 °C)	—	—	5.0~7.5
电导率(mS/m , 25 °C)	≤ 0.01	≤ 0.1	≤ 0.50
蒸发残渣(mg/kg , 105 °C \pm 2 °C)	—	≤ 1.0	≤ 2.0
可溶性硅(以 SiO ₂ 计)/(mg/L)	≤ 0.01	≤ 0.02	—
可氧化物质(以 O 计)/(mg/L)	—	≤ 0.08	≤ 0.4
最大吸光度(254 nm, 1 cm 光径)	≤ 0.001	≤ 0.01	—

注:(1)由于在一级水、二级水的纯度下,难于测定其真实的 pH,因此,对于一级水、二级水的 pH 范围不做规定。

(2)由于在一级水的纯度下,难于测定可氧化物质和蒸发残渣,对其限量不做规定,可用其他条件和制备方法来保证一级水的质量。

三、实验用纯水的使用与用途

(一)一级水

一级水适用于有严格要求的分析实验,包括对颗粒有要求的实验,如高效液相色谱用水。一级水可用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 0.2 μm 孔径的滤膜过滤来制取。

(二)二级水

二级水适用于灵敏的分析,原子吸收光谱技术用水、临床实验室大部分检测,如免疫和生化分析等均应用二级水。二级水可用多次蒸馏、离子交换或反渗透等方法制取。

(三)三级水

三级水适用于一般的化学分析实验、自动化仪器的冲洗、普通洗涤等。三级水可用简单蒸馏、离子交换或反渗透的方法制取。

实验中不应盲目追求水的纯度,水的纯度越高,价格也就越高,因此应根据实际需要选用相应级别的纯水。另外,在实际工作中,除应注意纯水制备时的质量外,还应注意纯水在运输、储存和使用过程中的污染问题:塑料容器可产生有紫外吸收的有机物;玻璃和金属容器会产生金属离子的污染;长时间放置会滋生细菌。一般采用聚乙烯或聚丙烯容器储存蒸馏水,但储存时间不宜过长,使用时应避免一切可能的污染。



NOTE

第六节 化学试剂的制备、使用及其安全

化学试剂(chemical reagent)是指在化学实验、化学分析、化学研究及其他实验中使用的各种纯度等级的化合物或单质。临床生物化学检验实验中,经常配制实验试剂,实验人员应熟悉化学试剂的品级规格、安全使用和制备等相关方面的知识。此外,随着商品化试剂盒在临床上的广泛应用,实验人员应熟悉试剂盒的性能指标和选择原则,以便在实际工作中能正确选择和使用。

一、化学试剂的品级规格

化学试剂种类繁多,目前没有统一的分类方法,一般按用途和品级分类。化学试剂根据用途可分为通用试剂和专用试剂。后者主要包括教学试剂、缓冲液、指示试剂、仪器分析试剂、生物化学试剂、生物试剂、微生物试剂、生物染色剂、荧光分析试剂、液相色谱试剂、临床诊断试剂、分子生物学试剂等。根据化学试剂的纯度(杂质含量的多少),我国常将化学试剂分为四级(表 1-3)。

表 1-3 一般化学试剂的品级、纯度和用途

品 级	中文名称	英文及缩写	标签颜色	纯度和用途
一级	优级纯 (保证试剂)	guaranteed reagent(GR)	绿	纯度高,杂质含量低,适用于精确分析、研究工作,可作为基准物质
二级	分析纯 (分析试剂)	analytical reagent(AR)	红	纯度较高,杂质含量略高,适用于一般的科学研究和定量分析
三级	化学纯	chemical pure(CP)	蓝	质量略低于二级试剂,适用于一般定量、定性分析
四级	实验试剂	laboratory reagent(LR)	黄	纯度较低,适用于一般定性实验

除了上述四个级别外,目前市场上尚有基准试剂(primary reagent,PT)、光谱纯试剂(spectrum pure,SP)和高纯试剂等其他特殊级别的试剂。①基准试剂:专门作为基准物用,可直接配制标准溶液。②光谱纯试剂:表示光谱纯净。但由于有机物在光谱上显示不出,所以有时主要成分达不到99.9%以上,使用时必须注意,特别是作基准物时,必须进行标定。③高纯试剂($\geq 99.99\%$):纯度远高于优级纯的试剂,是在通用试剂基础上发展起来的,它是为了专门的使用目的而用特殊方法生产的纯度最高的试剂。它的杂质含量要比优级纯试剂低2~4个或更多个数量级。因此,高纯试剂特别适用于一些痕量分析,而通常的优级纯试剂达不到这种精密分析的要求。

二、化学试剂的选用、制备与使用

(一) 化学试剂的选用

实验中选用何种品级的试剂,应以分析要求,包括分析任务、分析方法、对结果准确度等的要求为依据,选用不同等级的试剂。测定含微量物质的样品时,因干扰因素较多,必须选用品级、纯度较高的试剂,如测定微量元素时,必须用优级纯试剂;进行痕量分析时,选用高纯或优级纯试剂;作为标准物的试剂须选用高品级的试剂;使用分光光度法、原子吸收分析等时,选用纯度较高的试剂,以降低试剂的空白值;络合滴定中,常选用分析纯试剂,以免杂质金属离子会对指示剂起封闭作用;一般的定性检查可选用实验试剂。一般来说,试剂纯度越高,试剂引起的误差就越小。此外,不同品级的试剂价格往往相差甚远,纯度越高,价格越贵。若试剂等级选择不当,将会造成资金浪费或影响检验结果。

另外,必须指出的是,虽然化学试剂必须按照国家标准进行检验合格后才能出厂销售,但不同厂家、不同原料和工艺生产的试剂在性能上有时有显著差异。甚至同一厂家、不同批号的同一类试



NOTE

剂,其性质也很难完全一致。因此,在某些要求较高的分析中,不仅要考虑试剂的等级,还应注意生产厂家、产品批号等,必要时,应做专项检验和对照实验。

(二) 化学试剂的制备

试剂配制的方法分为两大类:一类是直接配制法,适用于标准液和一般溶液配制;另一类是间接配制法,适用于不易恒定的固体试剂和含量不准的液体试剂,即先配出大约浓度的溶液,再用标准溶液标定出试剂准确的浓度,如酸碱溶液。试剂配制时有一定的要求。

(1) 化学试剂应按《中国药典》或批准的书面规程中指定的方法配制。

(2) 配制时所用的操作器具必须洁净、无痕迹,量器最好选用经校正的一等品,按配制要求选用适当的天平。

(3) 所用的试剂应与配制规程的要求一致,且在使用期内。

(4) 配制应有记录,试剂瓶壁应贴标签,标签上应有试剂名称、浓度、有效期、配制人、配制日期等。

(三) 化学试剂的使用

(1) 使用前应先检查试剂(液)的名称、化学式、浓度、使用期限,无瓶签或瓶签字迹不清、超过使用期限的试剂不得使用。观察试剂的性状、颜色等外观性状,外观性状不符的、变质的试剂(液)不得使用。

(2) 用剩的试剂不能倒回原瓶中,使用时应标签向着手心,以免试剂(液)洒在瓶签上;需冷冻储藏的试剂使用时勿反复冻融,应按日用量分装冷冻,用多少取多少;低沸点试剂用毕应盖好内塞及外盖,置于冰箱储存;储于冰箱的试剂用毕立即放回,防止因温度升高而使试剂变质。

(3) 试剂用毕归还原处,不要乱放,防止因杂乱而造成不应有的差错。

(4) 防止试剂污染:吸管不要插错,勿接触别的试剂,勿触及样品或溶液;瓶塞勿与他物接触;瓶口不要开得太久。

三、化学试剂的储存

大部分化学试剂都具有一定的毒性,特别是一些易燃易爆危险品,必须由专人保管,在存放时,非危险试剂按分类特点存放于一般的柜体中。危险试剂应储藏在地下室或增设特殊柜放在其他房间。对于挥发性组分较多的试剂,需要低温储存,以最大限度地减少蒸发作用所导致的挥发性组分的流失。对于易发生危险反应的试剂应隔开存放,并在药品柜外按种类分别标明柜内存放的试剂,标签书写工整。

四、生化试剂盒的选择与使用

试剂盒(reagent kit)是指用于检验项目测定的所有配套试剂的组合,包括测定所必需的全部试剂及使用说明书。

(一) 生化试剂盒的类型

临床生化试剂盒通常可按剂型或试剂组成进行分类。按剂型可分为液体型、粉剂型、片剂型。目前以液体型为主,其优点是试剂组分高度均一、瓶间差异小、测定重复性好和使用方便,无须加入任何辅助试剂和蒸馏水,避免了外源性水质对试剂的影响,性能较稳定,测定结果较为准确。缺点是保存时间较短,不便于运输。

液体型试剂分为单试剂和双试剂。

1. 液体单试剂 将某种生化检验项目所用到的试剂科学地混合在一起,组成一种试剂。应用时,只须将标本和试剂按一定比例混合,即可进行相应的生化反应,然后用适当的方法检测结果。液体单试剂的优点是操作简便,适用于各类生化分析仪,节约试剂;缺点是稳定性差,不能完全避免内外源物质干扰。



NOTE