

<<临床生物化学检验实验指导>>

图书基本信息

书名：<<临床生物化学检验实验指导>>

13位ISBN编号：9787030349774

10位ISBN编号：7030349776

出版时间：2012-6

出版时间：科学出版社

作者：杨国珍、李兴、潘卫、黄海、许健、王良宏

页数：144

字数：228500

版权说明：本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

更多资源请访问：<http://www.tushu007.com>

<<临床生物化学检验实验指导>>

内容概要

临床生物化学检验实验指导是全国高等院校医学实验教学规划教材之一，全书共4章53个实验。

第一章是基本技能实验，重点介绍实验室的一些基本知识和临床生物化学检验基本技术。

第二章是常规应用实验，重点介绍体液蛋白质、脂类及脂蛋白、糖及其代谢物、非蛋白含氮化合物、酶类、血气分析、无机离子及微量元素和心肌标志物的检测。

第三章是综合应用实验，包括方法学评价实验、试剂盒性能评价实验、仪器性能评价实验和质量控制。

第四章是设计创新实验，包括动物模型的建立、临床常见疾病的实验诊断方案的设计等。

临床生物化学检验实验指导以临床生物化学检验基本技能实验和常规应用实验为主，强调临床生物化学检验的基础知识与基本操作技能，在此基础上增加了综合应用实验和设计创新实验内容，具有较强的临床实用性。

临床生物化学检验实验指导可供高等院校医学检验专业、卫生检验专业学生实验使用，也可供从事临床检验工作和医学研究的技术人员参考使用，并可用作临床医学、医学影像学、麻醉学、法医学、预防医学以及药学专业实验教学的参考用书。

<<临床生物化学检验实验指导>>

作者简介

杨国珍、李兴、潘卫、黄海、许健、王良宏

<<临床生物化学检验实验指导>>

书籍目录

第一章 临床生物化学检验基本技能实验第一节 实验室基本知识一、实验用玻璃器皿的清洗、使用和校正二、移液器的使用和校正三、临床生物化学检验实验用水第二节 临床生化检验基本技术一、光谱技术实验1 721 光光度计性能检查及校正二、电泳技术实验2 血清蛋白聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳实验3 乳酸脱氢酶同工酶乙酸纤维素薄膜电泳三、层析技术实验4 氨基酸双向纸层析实验5 离子交换层析分离血清蛋白质四、制备纯化技术实验6 动物肝脏RNA的制备实验7 核酸样品含量测定第三节 临床生物化学检验实验报告的书写一、实验报告的书写要求二、实验报告的书写内容三、实验报告书写的必要性和重要性第二章 临床生物化学检验常规应用实验第一节 化学法测定实验实验8 双缩脲法测定血清总蛋白实验9 溴甲酚绿法测定血清清蛋白实验10 果糖胺法测定糖化血清蛋白实验11 重氮法测定血清总胆红素和结合胆红素实验12 苦味酸固定时间法测定血清肌酐第二节 酶促反应法测定实验实验13 氧化酶法测定血清(浆)葡萄糖实验14 氧化酶法测定血清甘油三酯实验15 氧化酶法测定血清总胆固醇(TC)实验16 匀相法测定血清高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)实验17 匀相法测定血清低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)实验18 过氧化物酶指示系统法测定血清尿酸实验19 脱氢酶指示系统法测定血清尿素实验20 脱氢酶指示系统法测定血清肌酐实验21 酶激活法测定血清钙、磷、镁离子实验22 酶循环法测定血清总胆汁酸实验23 连续监测法测定血清丙氨酸氨基转移酶实验24 色素原底物法检测碱性磷酸酶第三节 电化学法测定实验实验25 离子选择性电极法(ISE)测定血清钠、钾、氯离子实验26 血气分析第四节 免疫化学法测定实验实验27 酶联免疫吸附法(ELISA 法)测定肌酸激酶及其同工酶实验28 心肌肌钙蛋白T 测定(电化学发光法)实验29 心肌肌红蛋白检测(免疫比浊法)实验30 透射比浊法测定尿微量清蛋白实验31 免疫比浊法测定血清胱抑素C实验32 免疫透射比浊法测定脂蛋白(a)第五节 层析法测定实验实验33 柱层析法测定糖化血红蛋白第三章 临床生物化学检验综合应用实验第一节 方法学评价实验实验34 方法比较试验实验35 回收试验实验36 干扰试验实验37 批内重复性实验实验38 检测限实验实验39 线性范围试验实验40 方法性能判断实验第二节 临床生化检验试剂盒性能评价实验实验41 线性范围实验实验42 时间反应曲线实验实验43 稳定性实验实验44 准确度和精密度实验第三节 临床生化检验仪器性能评价实验实验45 自动生化分析仪的性能评估实验第四节 临床生物化学检验质量控制实验46 临床化学检验室内质量控制实验47 临床化学检验室间质量评价(EQA)第四章 临床生物化学检验设计创新实验实验48 家兔乙醇代谢速率模型的建立与测定实验49 血清肌酐测定的干扰评价实验50 1型糖尿病动物模型的建立实验51 小鼠急性肝损伤的模型建立与检测实验52 急性肾小球肾炎实验室诊断方案的设计实验53 糖尿病酮症酸中毒实验室诊断方案的设计附录附录一 临床生物化学检验常用缓冲溶液的配制附录二 常用生化检验英文缩写术语参考资料

<<临床生物化学检验实验指导>>

章节摘录

第一章 临床生物化学检验基本技能实验 临床生物化学检验是生物化学、病理学、生物医学技术和临床医学等学科互相渗透、不断发展, 逐步形成的一门理论性和实践性的独立学科, 是检验医学专业的主干课程之一。

临床生物化学检验与临床实践紧密结合, 通过对人体生物样本进行检测, 为临床疾病的预防、诊断、病情监测、疗效观察和预后判断等提供重要信息。

临床生物化学检验的教学内容包括理论教学和实验教学两部分, 实验教学重在训练学生的实践操作能力, 这种能力对临床检验测定结果的准确性和可靠性至关重要。

为了达到实践教学目的, 提高实验教学效果, 使学生能够更好地掌握本课程的基础理论、基本知识和基本技能, 本章重点介绍实验室的一些基本知识和临床生化检验基本技术。

第一节 实验室基本知识 实验室基本知识包括实验室的安全知识、纯水的制备与检测、试剂的等级标准及试剂的配制、常用实验器材的使用和维护等。

实验室安全知识已在临床微生物学与检验教学中介绍, 本节主要介绍实验用玻璃器皿的清洗、使用和校正, 移液器的使用及校正和临床生物化学检验实验用水。

一、实验用玻璃器皿的清洗、使用和校正 实验用玻璃器皿分为容器类和量器类。

容器类玻璃器皿为常温或加热条件下物质的反应容器以及储存容器, 如试管、烧杯、锥形瓶、试剂瓶等。

量器类玻璃仪器用于计量溶液体积, 如量筒、容量瓶、吸量管、移液管、滴定管等。

(一) 玻璃器皿的清洗与干燥 玻璃器皿的清洁程度直接影响测定结果的准确性。

根据不同的实验目的, 使用不同的玻璃器皿, 选用不同的清洗剂进行清洗, 达到玻璃器皿清洁透明, 冲洗水沿器壁自然下流时无挂水珠现象。

1. 新购玻璃器皿的清洗 新购玻璃器皿的表面常附有游离的碱性物质, 在包装、运输过程中可能有污物, 可先用自来水洗刷至无污物, 0.5%的去污剂洗刷, 再用自来水洗净, 然后浸泡在1%~2%的盐酸溶液中过夜(至少4小时), 再用自来水洗净, 最后用去离子水冲洗两到三次, 倒放在架子上备用。

2. 使用过玻璃器皿的清洗 (1) 容器类玻璃器皿: 该类玻璃器皿使用后应及时倒掉内容物, 然后用自来水清洗以免黏污物干涸。

清洗时先用自来水刷洗至无污物, 后用合适的洗涤液洗刷器皿内外壁, 自来水流水冲洗, 蒸馏水冲洗2~3次, 烤干或倒置在清洁处。

(2) 量器类玻璃器皿: 该类玻璃器皿使用后应立即浸泡于自来水中以免黏污物干涸。

清洗时用流水冲洗附着的试剂、蛋白质等物质, 晾干, 铬酸洗液中浸泡4~6小时或过夜, 自来水冲洗干净, 蒸馏水冲洗2~4次, 晾干备用。

(3) 比色皿: 使用完毕立即用清水反复冲洗干净, 若附着有污物冲洗不净, 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, 倒置于干净滤纸上晾干备用。

注意为防止损坏比色皿的透光度, 勿用试管刷或粗糙的纸或布擦拭; 勿用强碱或强氧化剂清洗。

(4) 特殊玻璃器皿: 污染过血、尿等标本的试管清洗时, 应在消毒液(如重铬酸钾或煤酚皂溶液)中浸泡过夜进行消毒, 再按常规方法清洗。

被石蜡、凡士林或其他油脂类污染的玻璃量器要单独洗涤, 洗涤前先除去油脂再按常规方法清洗。

染料污染的玻璃器皿, 先用清水清洗, 再置于重铬酸钾清洁液或稀盐酸中浸泡以彻底去除附着的染料, 然后按常规方法清洗。

用于微量元素测量的玻璃器材应单独清洗, 先用稀硝酸浸泡再用去离子水冲洗, 然后按照一般方法清洗。

3. 几种清洗液的配制和应用 (1) 清洁液(重铬酸钾清洁液): 重铬酸钾1000g, 加热水2L并搅拌使之溶解, 冷却后缓慢加入浓硫酸10L, 混匀即可。

注意加入硫酸时, 速度不能过快, 以免产生高热而使容器破裂。

由于硫酸吸湿性强, 可吸收空气中水分而变稀, 用后应及时加盖。

<<临床生物化学检验实验指导>>

清洁液的颜色由棕黄色变为绿色，其清洁效力降低，再加入适量的重铬酸钾和浓硫酸可继续使用，若变成黑色则不能再用，应重新配制。

(2) 乙二胺四乙酸二钠 (EDTA-Na₂) 洗液：50~100g/L的EDTA-Na₂溶液，加热煮沸可清洗玻璃器皿内壁的白色沉淀物如钙、镁盐类和不易溶解的重金属盐类。

(3) 其他特殊洗液：草酸洗液可洗脱高锰酸钾的痕迹，硫代硫酸钠洗液可去除碘液污染，7.5mol/L尿素洗液可除去黏附在器皿上的血液或血清蛋白。

(二) 玻璃器皿的使用 1.量筒 量筒一般用于不太精密的液体计量，使用时根据需要选择不同量程的量筒。

如取用8ml时，应选用10ml量筒（误差±0.1ml）。

读取量筒刻度值时，一定要使视线与量筒内液面处于同一水平线上，以免增加量取误差。

量筒不能做反应容器，不能装热的液体。

2.容量瓶 容量瓶为细颈梨形的平底瓶，一般用于将精密称量的固体试剂或一定浓度的浓溶液配制成准确浓度的溶液。

瓶颈上有环形标线，标示指定温度时液体的容积。

容量瓶与瓶塞配套使用，使用前检查是否漏水。

注意容量瓶不能长期存放溶液，不能在烤箱中烘烤，不许以任何形式对其加热。

3.吸量管 吸量管一般用于准确量取一定体积的液体，可分三类：奥氏吸量管、移液管和刻度吸量管。

(1) 奥氏吸量管：准确性最好，尤其适用于黏稠液体的量取，常用规格有0.5ml、1.0ml、2.0ml和3.0ml等。

此种吸量管只有一个刻度，当放出所量取的液体时，管尖残留的液体须吹入容器内。

(2) 刻度吸量管：主要用于量取10ml以下任意体积的溶液，分全流出式和不完全流出式两种。

完全流出式的上端常标有吹字，刻度包括尖端部分，欲将所取液体全部放出时，应将管尖的液体吹出。

另一种吸量管的刻度不包括管尖部分，放液时至相应刻度线处即可。

吸量管使用应规范。

移取液体时，用右手的大拇指和中指拿住管上方，食指向上配合左手操作。

吸量管插入液体中1~2cm，左手用洗耳球慢慢将液体吸入管内。

当液面升高到刻度以上时，立即用右手食指按住管口，将吸量管下口提出液面，略微放松食指使液面平稳下降，直到溶液的弯月面与标线相切时，食指立即压紧管口使液体不再流出。

放出液体时，将吸量管末端外壁的溶液用干净滤纸擦去，然后使管末端靠在器皿内壁上，松开食指，让管内液体自然沿器壁流下，待15秒左右拿出吸量管。

(3) 移液管：一般用来准确量取较大体积液体，常用规格有50ml、25ml、10ml、5ml、2ml和1ml等。

用移液管量取液体时，量取的液体自然流出后，管尖需在盛器内壁停留15秒左右。

管尖残留的液体不要吹出。

(4) 烧杯：常用于盛放液体、加热和溶解试剂，常与容量瓶配合使用。

使用时切勿用手接触其内壁，溶解或混匀试剂时可用玻璃棒轻轻搅拌混匀。

烧杯内溶液倒入容量瓶时，注意用溶液多次冲洗烧杯，一并倾入容量瓶内。

(5) 漏斗：多用于过滤和收集沉淀物。

在定量分析时，选用大小合适的滤纸，对角折叠两次后1/3分开放入漏斗内，纸的边缘不能超出漏斗上缘。

滤纸大小与过滤液体量应相配，过大使滤液回收减少，所含成分浓缩而影响其效果。

(三) 常用玻璃器皿的校正在校正量器之前，须先熟悉它们的正确使用方法，校正方法与实际工作中的使用方法一致。

校正时，所用蒸馏水至少在室内放置1小时以上，校正仪器应仔细洗涤至内壁完全不挂水珠，如室温变化须记录水的温度，在开始放水前，滴定管或移液管尖端与外面的水必须除去。

<<临床生物化学检验实验指导>>

1.校正量器的方法 校正方法一般通过量器在某温度时所容纳水或水银的重量来推算其体积。因此,校正时必须考虑三个因素,即温度对量器的影响,温度对水或水银密度的影响,空气浮力对水重量的影响,其中温度对水密度的影响最大。

校正时的温度应尽量接近实验室全年平均温度(一般为20)。

校正的基本程序:称出量器容纳的水重,根据以下公式换算为体积。

$W_{20} = W_t/r$, W_t 为某一温度下所称得的水重, r 为某温度时充满容量为1L的玻璃量器的水的重量(表1-1)。

例如:容器为1L的量瓶在20 校正时,称得水重为998.06g,从表1-1查得20 时 r 值为997.15,则该量瓶在20 时的真实容量为: $V_{20} = 1000 \times (W_t/r) = 1000 \times (998.06/997.15) = 1000.91$ (ml),校正值为 $1000.91 - 1000 = +0.91$ ml

2.校正吸量管的方法 一般0.2ml以上吸量管均可用水称量法校正。

将吸量管洗净,干燥,吸取蒸馏水至标线以上,缓缓调节液面弧形至标线,将水放入已称量的具塞锥形瓶中,再称量,两次重量之差为水的重量,以实验温度时每毫升水的重量来除水重,即得吸量管的真实体积。

若在允许误差范围内即为合格,超过允许误差则弃之或重新刻度。

3.校正容量瓶的方法 将洗净的容量瓶在室温晾干,称空瓶重,注入蒸馏水至标线再称重,两次重量之差即为瓶中水重,以实验温度时每毫升水的重量来除水重,即得容量瓶的真实体积。

二、移液器的使用和校正移液器又称移液枪、微量加样器,加样精确,按原理主要有空气垫式加样器和活塞正移动式加样器两种。

移液器是量出式量器,分为定量移液器和可调移液器两大类。

移液器主要由显示窗、容量调节部件、活塞、活塞套、吸引管和吸液嘴等部分组成。

1.移液器的使用方法(1)量程选择:移液器能在特定量程范围内准确移取液体,使用时如果超出最小或最大量程,会损坏加样器并导致计量不准。

(2)设定体积:刻度调节系统一般由3个数字组成。

正常调节方法是从大量程调节至小量程。

从小量程调节至大量程时,应先调至超过设定体积刻度,再回调至设定体积,这样可以保证移液器的准确性。

(3)吸头安装:选择合适吸头,将移液枪垂直插入吸头,左右旋转半圈上紧。

(4)预洗吸头:吸样前应预洗吸头,先轻轻吸打几次液样,可消除吸液误差。

(5)吸液:将按钮按至第一档,吸头垂直浸入液面2~3mm,慢慢吸入液体,停留1s将吸头提离液面,用吸纸抹去吸嘴外面可能黏附的液滴。

勿触及吸头口。

(6)放液:将吸头口贴到容器内壁并保持10°~40°倾斜,将按钮按至第一档,停1~2s后,继续按压至第二档,排除残余液体。

松开按钮,同时提起移液器。

(7)按吸头弹射器弃去吸头。

2.移液器的校正 为保证加样的准确性,需要定期对移液器进行校准。

校准可按以下程序进行。

(1)校正前准备:室温应控制在20~25 ,波动范围不大于±0.5 。

电子天平放置于无尘和震动影响的台面上,天平内放置一盛蒸馏水的小烧杯以保持湿度。

另外需要5~10ml体积的小烧杯一只,温度20~25 的双蒸水。

(2)校准步骤:将移液器调至拟校准体积,选择合适吸头,调节好天平,来回吸吹蒸馏水3次以使吸头湿润,移液器吸取蒸馏水,将蒸馏水完全打入称量烧杯中,记录称量值,并按以上步骤称量10次,取10次测量值的均值,按蒸馏水 Z 因子计算体积,最后按校准结果调节移液器。

三、临床生物化学检验实验用水水是实验室最常用的溶剂,天然水中含有许多杂质,须经过蒸馏、电渗析等处理,除去杂质才可作为实验用水。

实验用水的质量高低直接影响试剂质量和实验结果的准确性和精密性。

2008年中国制定了实验室用水国家标准,1985年美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)提出了实验

<<临床生物化学检验实验指导>>

用水的标准。

一般性实验选用 级水，特殊实验如酶活性测定、电解质分析等应选用 级水， 级水用作仪器、器皿的自来水清洁后冲洗。

(一) 纯水的制备方法和储存方法 1. 纯水的制备方法 (1) 蒸馏法：蒸馏水是利用水与杂质的沸点不同，经蒸馏器蒸馏制得。

将自来水或天然水在蒸馏器中加热气化，然后冷凝水蒸气得蒸馏水。

蒸馏法制纯水的优点是操作简单、成本低、效果好，适用于用水量较少的中、小厂矿和实验室使用。

用于纯水制备的蒸馏器有多种。

实验室用纯水可用玻璃或金属蒸馏器进行蒸馏制得。

特殊用途的高纯水可用硬质玻璃、石英、银、铂或聚四氟乙烯等材质的蒸馏器进行蒸馏制得，一般化学分析用的蒸馏水通常是通过一次蒸馏的方法制得，称为一次水。

精密分析或测定高纯物质时所用的纯度较高的水，可用普通蒸馏器增加蒸馏次数或减慢蒸馏速度的方法制得。

(2) 离子交换法：通过离子交换树脂精制的纯水称为离子交换水或去离子水。

由于离子交换树脂去离子能力强，水质良好，出水量大，成本低，操作技术易掌握等优点，适合于各种规模的实验室采用。

在用水量大的场合有替代蒸馏法制备纯水的趋势。

离子交换法是通过离子交换树脂过滤，水中的离子与树脂上的离子发生交换使水得到净化的方法。

实验室用纯水的制备程序一般分为两步：硬水软化和去离子。

硬水软化是指在用树脂交换离子之前，先将水质硬度降低到一定程度的一种前处理工艺。

去离子是利用离子交换树脂中的氢离子交换水中的阳离子，以氢氧根离子交换水中的阴离子。

目前，国内外相关去离子水的制备技术和设备已经很成熟，去离子水设备有现成的商品可以买到。

(3) 电渗析法制取纯水：电渗析纯化水是除去水中的电解质，又叫电渗析脱盐。

电渗析纯化水的原理是利用离子交换膜的选择性透过，即阳离子交换膜（简称阳膜）仅允许阳离子通过，阴离子交换膜（简称阴膜）仅允许阴离子通过，在外加直流电场作用下，使一部分水中的离子通过离子交换膜迁移到另一部分水中，造成一部分水淡化，另一部分水浓缩，收集淡化水即为纯化水。

电渗析法对弱电解质去除效率较低，常用于海水淡化，不适用于单独制取分析用纯水。

电渗析法与离子交换法联用，可制得较好的分析用纯水。

电渗析法的优点是设备可自动化，节省人力，仅消耗电能，不消耗酸碱，不产生废酸等。

(4) 活性炭吸附法：活性炭吸附法是采用活性炭柱处理自来水以除去有机物的方法。

原理是利用活性炭过滤器的空隙大小，即有机物通过孔隙时的渗透率来达到去除有机物的目的。

(5) 超滤膜法：超滤膜法是采用超滤的方法除去水中悬浮物的方法，所得水仍需进一步纯化。

(6) 纯水器：目前多采用该法制备纯水。

它把纯化水技术的工作原理有效地集中在一台纯水机上，基本工艺是水经过滤膜预处理后，结合碳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。

2. 纯水的储存方法 在实际工作中应重视纯水的储存、运输和使用过程，以免纯水等级下降。

一般选用聚乙烯或聚丙烯桶或瓶储存，储存时间不宜太长。

使用时应避免仪器可能的污染，切勿用手接触纯水或容器内壁。

(二) 水的纯度检测 1. 标准检测方法 标准检测方法要求严格精确，一般用于精密分析实验和科学研究用水。

(1) pH 范围：纯水质量标准中对一、二级水的pH 未作具体规定，原因是纯水几乎不导电，在一、二级水的纯度下，很难准确测定其pH。

(2) 电导率：测一、二级水时，电导仪的电极常数应在 $0.01\sim 0.1\text{cm}^{-1}$ 。

测三级水时，电导仪的电极常数应在 $0.1\sim 1\text{cm}^{-1}$ 。

应使用具有温度补偿功能的电导仪，“在线”测定一级和二级水的电导率。

如果使用的电导仪不具有温度补偿功能，则应装有“在线”热交换器，使实验时水温能控制在 (25 ± 0.1) 。

<<临床生物化学检验实验指导>>

(3) 可氧化物质：用高锰酸钾滴定法来测定纯水中可氧化物的含量。

高锰酸钾滴定液呈紫红色或粉红色，具有强氧化性，若水中有可氧化物时，其被还原成为近无色的溶液。

据此可用于纯水可氧化物含量测定。

(4) 吸光度：用分光光度计来测定纯水的吸光度值。

将水样分别注入1cm和2cm吸收池中，于254nm处以1cm吸收池中的水样为参比，测定2cm吸收池中水样的吸光度。

若仪器灵敏度不够，可适当增加测量吸收池的厚度。

<<临床生物化学检验实验指导>>

编辑推荐

《全国高等院校医学检验专业实验教学规划教材:临床生物化学检验实验指导》由科学出版社出版。

<<临床生物化学检验实验指导>>

版权说明

本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

更多资源请访问:<http://www.tushu007.com>