

自动生化仪的发展历史

国际纯化学与应用化学协会(IUPAC) 对自动化的定义为: 由机械化的仪器设备取代人的手工操作过程, 这种仪器设备有信息反馈、自我监控、自我调节功能。临床生化分析仪是 20 世纪 50 年代经 Skeggs 提出设计方案而生产。当时仪器命名为自动分析仪是一台单通道、连续流动式自动分析仪, 只能以光密度值形式报告结果, 主要应用于临床实验室的比色分析。1964 年, 又报道了能同时测定多个项目的自动化分析仪。随后, 泰尔康(Technicon)公司又生产出连续多通道自动分析仪系列。70 年代中期又研制出电子计算机控制, 分析速度每小时在可达份标本, 同时测定 20 个项目的连续流动式自动化分析仪 SMAC。从 80 年代至今, 各仪器厂商如 Roche、Beckman、Olympus、Hitachi、Abbott、Bayer、Johnson 等纷至沓来, 使生产临床生化分析仪日趋完善。其不仅可以应用于临床生化的常规检测, 同时还能够测定尿液、脑脊液成分、各种药物与毒物、电解质、特定蛋白、激素等, 为实验医学提供了广泛的应用空间, 由于生化分析仪可以快速给医生提供综合性信息, 近些年来, 生化分析仪已成为临床实验室分析最常用的检验仪器。在我国从各大医院到县级医院及至镇级医院都拥有不同生产厂商的自动化分析仪, 目前我国较为普及的生化分析仪有奥林巴斯系列, 如 AU400、AU600、AU640、AU1000, 贝克曼 CX3、CX7、CX9、LX20 系列及日立 7020, 7060, 7170A 系列等。

自动生化分析仪是集自动化技术、光学、微电子技术学和计算机科学与临床生化分析的进样、稀释、混合、反应、比色、分析过程的监控和数据记录、计算、打印功能于一身的自动化仪器。

(一)连续流动式自动化分析仪

最先由 Skeggs 报道, 继后由 Technicon 公司生产了第一台连续流动式自动化分析仪, 其特点是流动室主要基于“气泡隔离连续分析”原理。将相同测定项目的样本与试剂混合后在同一管道中完成化学反应的测定过程。其工作过程为: 首先通过比例泵将标本和试剂按比例地吸到连续的管道系统中, 在管道系统内样本和试剂相结合完成混合、分离、保温反应、显色、比色等步骤。然后将所测得的吸光度变化作计算, 将测试结果显示并打印输出。因为这种检测分析过程是一个跟着一个标本在连续流动的过程式中完成测定的, 故称之为连续流动式生化分析仪。流动式全自动生化分析仪是从半自动生化分析仪发展而来。

(二)离心式生化分析仪

离心式生化分析仪由 Anderson 博士设计, 于 1969 年问世, 它的特点是将样本和试剂放在特制的圆盘内, 圆盘放在离心机上作为转头, 在离心作用下完成混合、反应和测定, 圆盘上有呈放射状的三个一组的孔, 可多达 30 组, 其中里边一个孔加试剂, 中间孔加样品, 最外边孔的上下表面用透明塑料制成, 其作比色孔。当加入样本和试剂后, 转盘转动, 在离心力的作用下, 内孔中的试剂和中间孔中的样品首先混合, 最后进入外孔。单色光是按垂直方向通过比色孔进行比色测定, 然后将所测得的吸光度进行计算, 并显示与打印测试结果。

(三)分离式生化分析仪

分离式生化分析仪是目前应用最多的一类生化分析仪, 其特点是模仿手工操作, 用加样探针将样本加入各自的比色杯中, 试剂探针按一定的时间要求自动地定量加入试剂, 经搅拌器混匀后, 在

一定的条件下反应。反应后将其抽入流动比色器中进行测定，或直接将特制的反应杯作为比色器进行比色测定。比色器依次进入光路，在不同时间内记录吸光度变化而进行测定。

分离式分析仪有单通道和多通道型，也有大，中，小型；有的是固定项目，有的可自动选择项目。这种分析仪可用动力学、终点法、二点终点法、二点速率法等多种方法测定，是生化分析仪中应用数量最多的一种机型如 Hitachi 7060(图 16—1)。

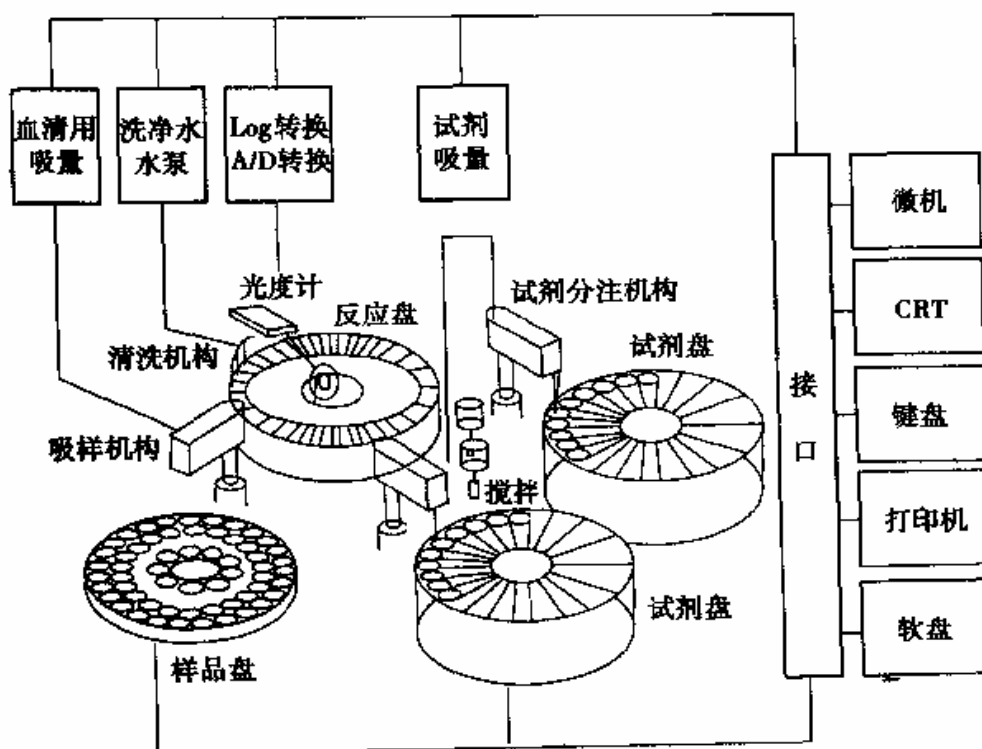


图 16-1 分离式生化分析仪器组成示意图

【四】模块式自动化系列

模块化系统提供多种组件，有多种配置方式，从而可满足不同用户要求。真正的模块化系统可自由选择，灵活地配置不同组件，从而推动实验室的发展。如日立 7600 全自动生化分析仪(图 16-2)准确地讲不是一台分析仪，而是一套小型的实验室自动化系统。它是在日立生化分析仪基础上采用先进的控制技术，模块化结构开发的大型组合式分析仪。其具有高度的灵活性和扩展性，根据用户需要自由组合，同时配上样本投



图 16-2 HITACHI 7600 模块式全自动生化分析仪

入部，样本架输入部，复查等待样品架缓冲部和分析样品收纳部，由中央计算机与各单元 CPU 构成 windows NT internet 系统控制，可随时随地增减单元部，整个工作流程由中央计算机智能多线路程控，合理分配，实现高速、高效的测定。通过定时器设定，可进行无人状态一体化程序控制检测，自动清洗，保养和关机。智能检查和模块，在正常测试的同时，对异常模块进行维护，并可分担任务自动转移测定。随着各种系列组合仪器大量涌现，自动化的流水线可对样本进行自动处理，从而提高效率和操作的安全性及资源的最大化利用，模块式不仅为未来的全自动化实验室打下了基础，而且也是根据实验室要求可加入特殊分析模块如免疫分析模块（图 16-2，16-3）。

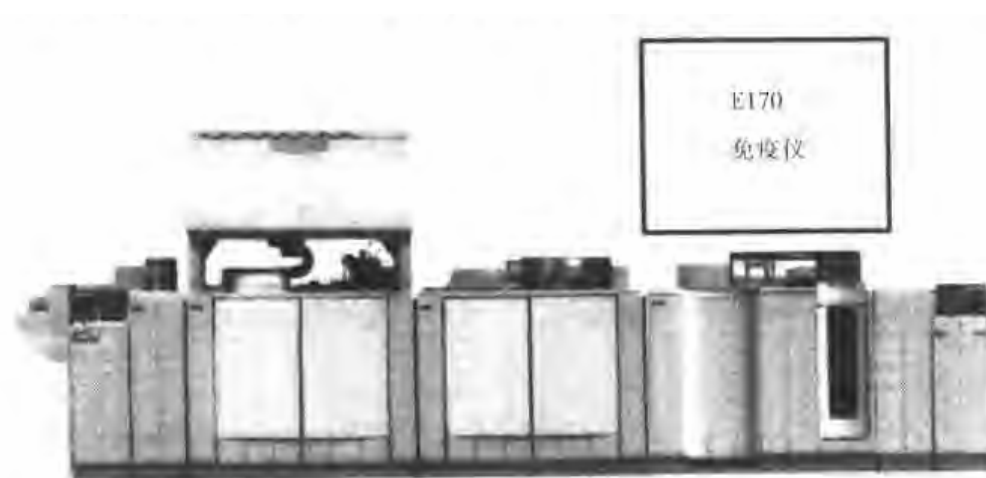


图 16-3 模块式系统平台融入免疫分析模块

(五) 全实验室自动化分析系统 (total laboratory automation, TLA)

全实验室自动化于 20 世纪 80 年代初开始发展, 主要指由多台自动分析仪, 样本管理与传递系统, 分析流程控制软件, 数据管理软件有机地结合起来, 而形成的一个高度自动化的工作环境, 可应用于临床实验室各个部门。未来的实验室或整体化实验室, 可以完成从标本接收、离心、分装血清、运送样本、自动检测、标本储存、处理和结果报

告的整个工作过程, 实验室就像一个生产车间。20 世纪 50 年代自动分析仪的出现意味着临床实验室的革命, 那么 TLA 可使实验室进行一场更大的变革。TIA 将对临床实验室产生巨大的影响, 实验室的组织和管理将打破目前分科的界限, 同时, TIA 将对技术人员要求更高, 要求他们不局限于自己的学科, 应熟悉检验科中各个学科并能掌握计算机技术。实验室的领导层中将不仅需要病理学家、临床化学家、还需要仪器工程师、信息工程师等。奥林巴斯近年研创生产的大型全自动实验室包括样本采集与自动处理、样品自动传输系统、生化分析系统、血液分析系统、免疫分析系统、数据采集及处理系统等, 是今后实验室的发展方向。TLA 不仅同传统的生化自动分析仪测定项目有交叉, 而且技术上互有渗透, 可以说虽然两者测试方法不一样, 但其他部分如样品处理系统、加样系统、监测和数据系统都相同。可以肯定, 今后完全可出现既能完成传统临床化学测定, 又能完成免疫学测定的全能型自动化分析系统(图 16-4)。

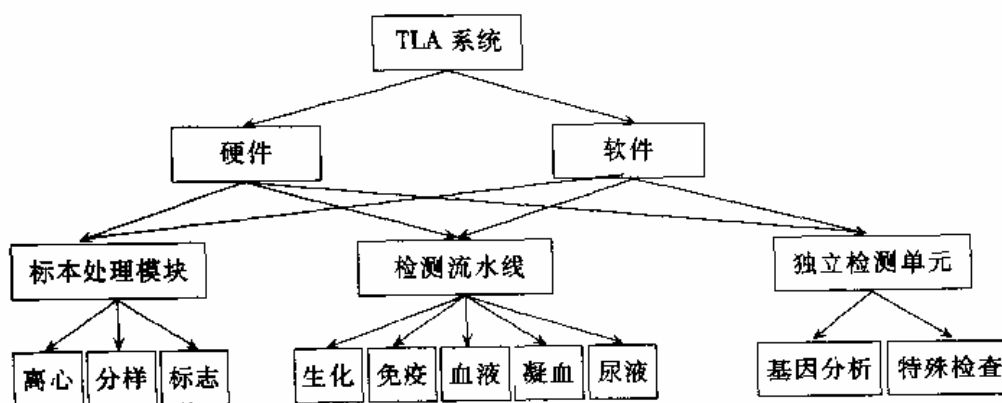


图 16-4 TLA 系统组成模式

1. 血清分离的自动化 用于临床化学分析的样本绝大多数是血清，即从患者取出的血液在血样本管内凝固，离心分离血清并将血清转入到另一个测定样本管内，可通过以下两个途径解决这一步骤的自动化：

(1) 直接测定全血，大多数的离子选择电极 (ISE) 测定法，包括钾、钠、氯、钙、锂、二氧化碳等离子的测定及胶片干试剂测定法，可采集全血标本，从而省去分离血清步骤。

(2) 自动化分析仪用带有液面传感器的样本吸管 (血清吸管) 能直接从采血试管中吸出血清做分析，通常要求有专门分离血清和血细胞的界线的采血管，免去把血清转入到测定样本管的步骤。

2. 分析前的样本自动化处理系统 此系统类似一个车间流水线，包括标本传送机 (sample feeder)、离心操作站 (centrifuge station)、揭盖机 (uncapper)、样本分装机 (aliquot station)、条形码标贴机 (bar code labelling station) 和样本储存柜 (sample stocker) 等部分 (图 16-5)。其中，样本输送机将样本架上的样本管依次送到离心操作站，用机械臂将样本管装入离心筒内，离心后从离心筒取出样本管，送至揭盖机依次启盖；当样本进入分配站，其可将每份样本按测定要求吸取所需血清量注入测定管内，条形码标贴站可将含有患者各种信息的条形码，贴在原始样本管与测定管上，然后将血清送至存储柜内储存备用 (图 16-6，图 16-7)。

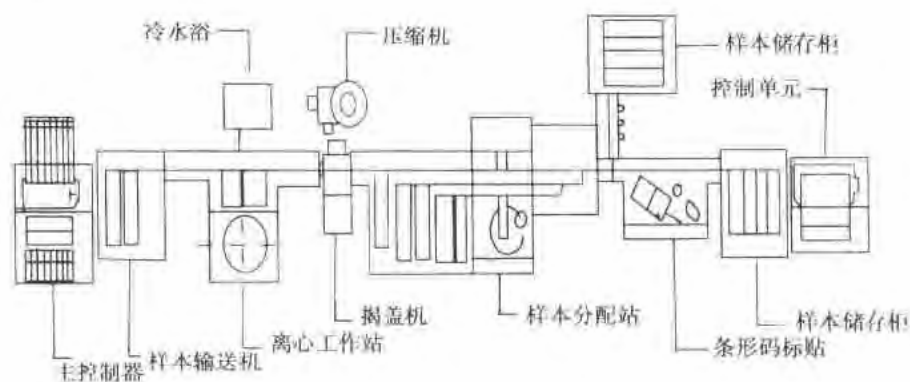


图 16-5 TLA 工作流程示意图

第二节 自动化分析仪的光学测定原理

一、光的性质

光是一种电磁波，日常所见的可见光波长为 400~700nm 之间的电磁波，复合光是由红橙黄绿青蓝紫按不同比例混合而成的，不同的波长被人的眼所感受，在可见光之外的光是红外和紫外光（表 16-1）。

表 16-1 不同颜色的光及其波长范围

颜 色	波长(nm)	颜 色	波长(nm)
红外	761~2 500	青	481~500
红	621~760	蓝	431~480
橙	591~620	紫	401~430
黄	561~590	紫外	191~400
绿	501~560		

二、光的互补及有色物质对光的吸收

光的互补效应：两种不同波长的光按一定量混合，能得到白光，这两种颜色的光称为互补光。红与青、橙与青紫、黄与蓝、绿与紫比例混合可得到白光，其互为补色。物质对光的选择性吸收：由于物质的性质和形状的区别，表现出不同的颜色，在化学分析中有色液体对光的吸收具有选择性，各种溶液所呈现出的不同颜色是因为液体中的有色分子或离子选择性地吸收了某种颜色的光，液体所呈现出的颜色是它的主要吸收色的互补色，根据这一原理可对实验的波长进行选择。

三、朗伯—比尔定律（Lambert—Beer）

（一）物质吸收光谱

对各种物质的定量测定的基础是其一在水溶液中有一定的颜色，当一束光通过溶液时，物质的颜色与光的吸收、透过、反射有关。通过比较溶液对光的吸收情况，来测定物质的浓度。一般用光的吸收曲线描述溶液对各种波长的光吸收情况。不同波长的光通过一定浓度的有色溶液，可以测定其对各种波长吸收的程度并用吸收光谱曲线表示（图 16-8）。当同一

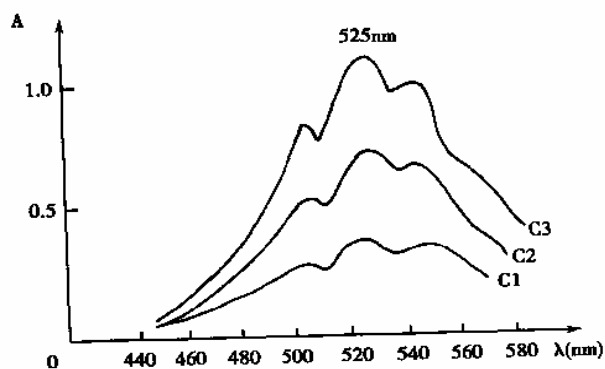


图 16-8 高锰酸钾溶液的光吸收曲线

物质溶液的浓度不同时，其最大吸收波长和曲线形状并不发生变化，这称为每种物质具有特定的吸收光谱。根据吸收光谱的不同可鉴别各种物质，其对光的吸收程度越大，溶液的浓度越高。

(二) 朗伯—比尔定律

分光光度法是自动生化分析仪的基础，即各种仪器分析都按朗伯—比尔 (Lambert—Beer) 定律进行。当一束平行光照射溶液时，光的一部分被溶液吸收，一部分透过溶液，还有一部分被盛有溶液的容器反射，当入射光的强度为 I_0 ，吸光度为 I_a ，透光度为 I_t ，反射光强度为 I_r 时，则有 $I_0 = I_a + I_t + I_r$ 。在仪器中装溶液的容器为比色杯，均为同种材料、同一规格，当反射光强度 I_r 为一个恒值，不会引起测量误差，则上式可简化为： $I_0 = I_a + I_t$ 。

由于仪器中选用特种灯泡作为光源，使入射光强度 I_0 为常数，当溶液对光的吸收强度 I_a 越大，则透过光的强度 I_t 就会越小，即透过光强度的大小仅与有色溶液对光线的吸收有关，用透光度 T 来表示透过光强度占入射光强度的百分比，即 $T = I_t/I_0\%$ 。当光通过有色溶液时，溶液要吸收一部分光线，光的强度减弱越明显，溶液的浓度越大，透过的液层越厚，光的吸收越多。由于仪器中的入射强度是恒定的，所以光的吸收只与液层的厚度和溶液的浓度有关。

1. 朗伯定律 设某一波长单色光，经过的溶液浓度一定，溶液厚度为 L 的均匀溶液，入射光强度为 I_0 ，透过光的强度为 I_t (图 16-9)，表达式如下： $\lg(I_0/I_t) = k_0 \times L$ 。式中 I_0/I_t 是透光度 T 的倒数，表示了溶液吸收光的程度，在国际上，令 $A = \lg(I_0/I_t)$ ，通称为吸光度 A ，当入射光强度 I_0 一定时，通过光强度 I_t 越小，光的吸收程度越大，吸光度 A 也越大。吸光度 A 可写成： $A = k_0 \times L$ 。反映了液层厚度与光吸收之间的关系，称为朗伯定律。

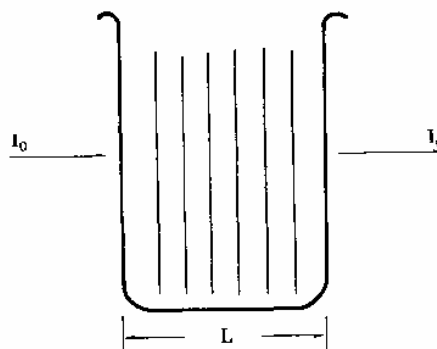


图 16-9 单色光透过比色皿示意图

2. 比尔定律 在任何全自动生化分析仪中，液层厚度一般是不变的，在仪器中为比色器的宽度，只与溶液的浓度 C 变化有关，浓度越大，入射光越强，光的吸收就越多。表达式如下： $\lg(I_0/I_t) = B \times C$ ， B 为比例常数。反映了溶液的浓度与光的吸收之间的关系，称作比尔定律。

3. 朗伯—比尔定理 朗伯—比尔定理又称为光的吸收定律。即当入射光强度一定时，溶液的吸光度与溶液的浓度、液层厚度成正比，即： $A = K \times C \times L$ ，这个定律是比色、分光、吸收光谱分析溶液浓度及含量的理论基础。式中： $K = A/CL$ 称为吸光系数，表示有色溶液在单位浓度和单位厚度时的吸光度。在入射光波长，溶液的种类和温度一定的条件下， K 为定值。吸光度 A 与透光度 T 成负对数关系，表达式如下：

$$A = \lg I_0/I_t = -\lg I_t/I_0 = -\lg T$$

四、光学系统

(一) 光源

全自动生化分析仪的光源多采用卤素灯和闪烁氙灯。理想的光源应在整个所需要的波长范围内具有均匀的发光强度，它的光谱应该包括所用的波长范围内所有波长的光，光的强度应该足够大，并且在整个光谱区中，其强度不应随波长有明显的变化。

1. 卤素灯 卤素灯是在灯中加入适量的卤化物而制成的。其灯壁多采用石英式高硅氧玻璃，卤素灯有比较强的发光效率和较长的寿命。主要原因是卤素灯中，钨蒸气在靠近灯壁的低温区与卤素相结合，生成了挥发性的卤化钨气体。由于灯泡内的热对流，使卤化钨气体产生流动，当卤化钨碰上高温灯丝时，又分解成卤素和钨，钨沉淀在灯丝上，而卤素再继续扩散到温度较低的灯壁区与钨化合。由于有卤钨循环或钨的再生，这一循环大大减少了钨在灯泡内壁的沉积，不但延长了灯泡的寿命，还提高了灯泡性能，其寿命在 5 000 小时以上。

2. 高压闪烁氙灯 高压闪烁氙灯有专门的一块电路板为其提供 120V~1 500V 的高压触发脉冲，灯不用灯丝，内部充有惰性气体——氙气，灯内的正、负极在高压脉冲触发下短弧放电，使灯发出在可见光波段能量比较均匀的光来，灯的能量曲线如图 16-10，每曲线为一次闪烁发出的能量，灯的外壳为石英材料，使用寿命长。氙光源灯的最大特点是低波长的能量高，一次闪烁发出的能量比较均匀。但氙灯的价格比较昂贵。

从图 16-10 氙灯的能量曲线可见，每闪烁一次发出光的能量都是不一样的，即由不同能量的光照射溶液样品所测得的吸光度值是不一样的，所以必须对此进行校正。校正原理如图 16-11。在实际测量时，选择两处或两个以上波长的光来测取吸光度数值，吸光度最大处对应的波长为主波长，吸光度第二大数值对应的波长为参考波长，不论光源每次闪烁时能量如何变化，而主波长与参考波长所产生的吸光度之差，对于同一浓度的样品是恒定的。如图 16-11 所示， $D=D'=D''$ 。样品的浓度与两个波长所产生的不变的吸光度之差成正比。

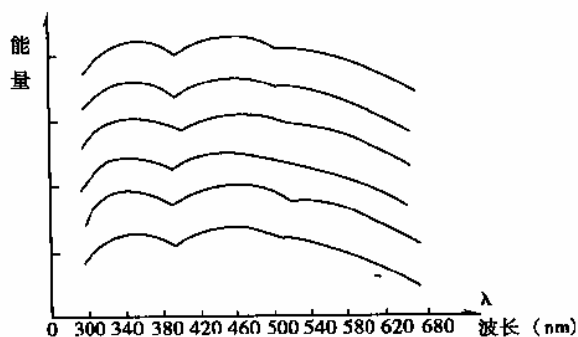


图 16-10 氙灯的能量曲线

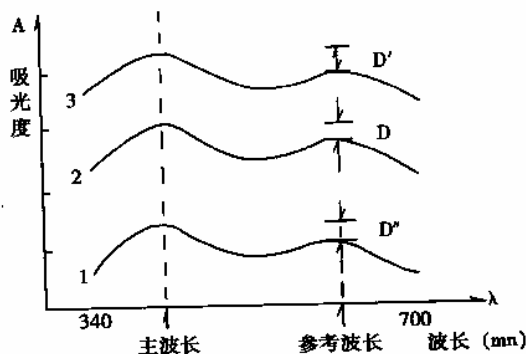


图 16-11 氙灯能量校正原理

Beckman Cx 系列仪器，在使用 BECKMAN 固定检验程序做各种项目时，仪器自动选择 5 个波长同时测定每个反应杯的吸光度，CPU 自己计算出差值，从而去掉光源能量变化引起的误差，将干扰降到最小。当用户自编检验程序，做各项目检验时，必须选择两个波长，最好是选用主波长和参考波长，来测取样品的吸光度值，保证检验结果准确可靠（表 16-2）。

表 16-2 闪烁氙灯与卤素灯的比较

比较内容	氙 灯	卤素灯
波长范围	300~760nm	310~800nm
寿命	长	5 000h
产生臭氧	多	少
产生热量	少	多
噪声	低	高
多点波长光亮强度	能量大	一般
价格	昂贵	低廉

（二）后分光波长

这是自动生化分析仪中普遍采用的一种分光光度法技术。过去传统分光普遍采用前分光，如图 16-12。在光源灯和样品杯之间，通常要用滤光片、棱镜或光栅分光，通

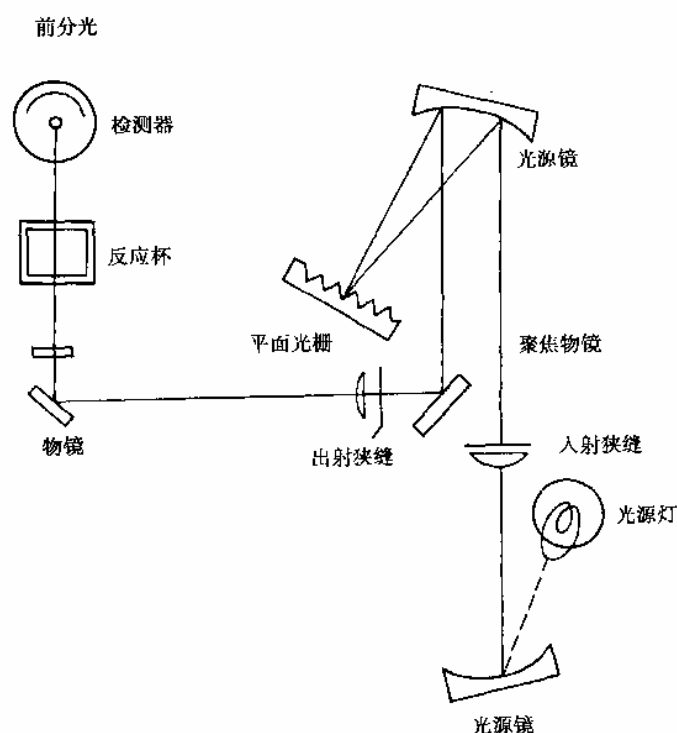


图 16-12 前分光生化分析仪测光原理

过可调节的狭缝，取得单色光之后，照射到样品杯，并通过光电池或光电管作为检测器，测定样品对单色光的吸光度。而后分光技术如图 16-13，则是将一束白光

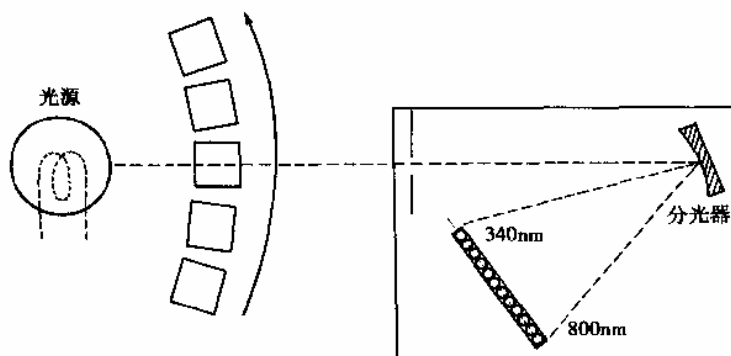


图 16-13 后分光生化仪测光原理

（混合光）先照射到样品杯，通过样品杯的光再经光栅分光，用检测器检测任何一个波长的光吸收量。后分光的优点有：①可同时选用双波长进行测定大大降低了噪声；②光路中无可动部分，无需移动仪器的任何部件；③通过双波长或多波长可有效地抑制混浊、溶血、黄疸对实验测定的影响；④双波长或多波长可有效地补偿由于电源变动的影响。综上所述，后分光技术能获得正确稳定的测定结果，大大优于前分光技术。

（三）双波长测定原理

全自动生化分析仪设计中常应用双波长法。即在整个反应全过程监控中，主副波长同时监测，全过程每点主波长吸光度值都同时减去同点副波长吸光度值（图 16-14）。

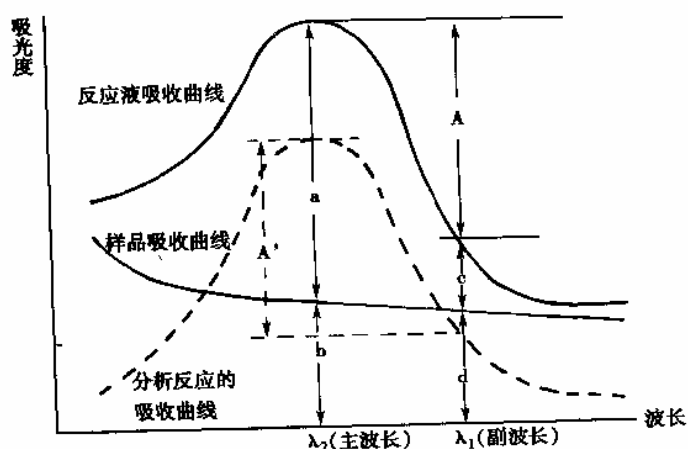


图 16-14 双波长测光原理

即 $A = \lambda_2 - \lambda_1 = (a+b) - (c+d)$ ，当 $b=d$ 时， $A = a - c = A'$ 。由于全自动生化分析仪普遍采用了后分光技术。透镜对来自光源的白色光聚焦，首先通过测光用的反应杯，然后用凹面光栅分光进行后分光，分光后的各波长由 8-16 个固定检测器同时

接收，对其中的 2 个波长 λ_1 、 λ_2 的信息用两个前置放大器放大并进行对数放大，求出其吸光度差。如图 16-15，双波长测光的特点是通过求得两个波长的吸光度差，可以有效地扣除样本的混浊、溶血、黄疸的干扰，并将噪声部分降低到最低限度。例如：可消除或最大限度地减少因反应液中的污物、纤维蛋白、光源的闪烁、漂移、反应杯的伤痕、污染、恒温水中的污物等引起的误差。

双波长分析法应用原则为：①干扰因素对主副波长的影响接近（波长 λ_2 和 λ_1 越接近越好）；②不应影响测定的灵敏度。

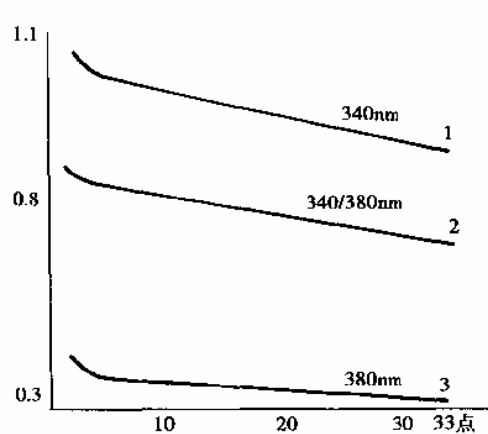


图 16-15

- 1. 主波长全反应过程的吸光度变化
- 2. 主波长—副波长全反应过程的吸光度变化
- 3. 副波长全反应过程的吸光度变化

第三节 自动生化分析仪的结构

自动生化分析仪的机械部分由样本盘或样本轨道、恒温系统、搅拌系统、操作系统、冲洗系统、反应盘、光路系统组成，如图 16-16。

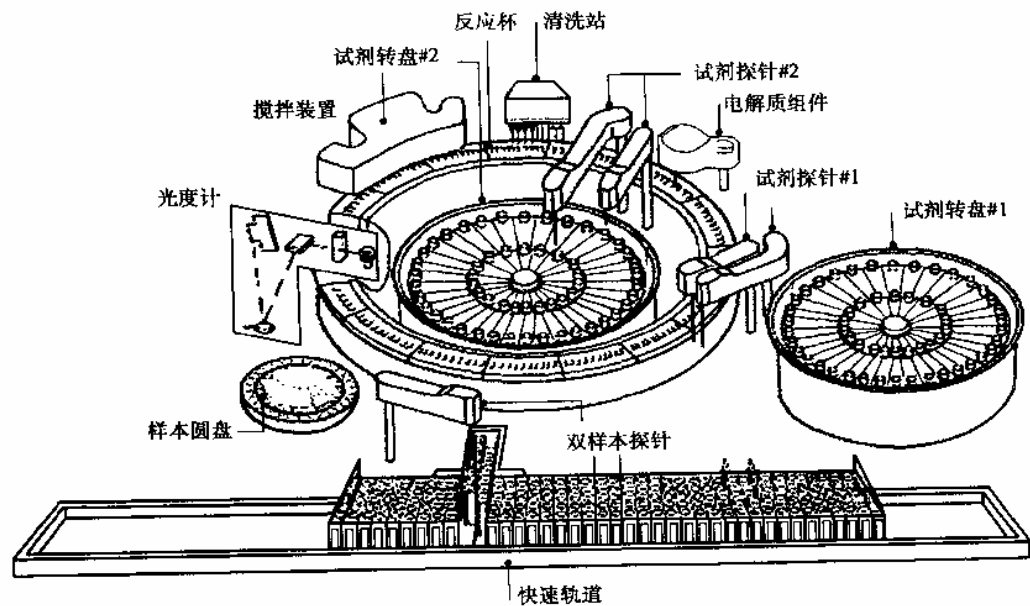


图 16-16 ABOTT 公司 AEROSSET 2000 仪器结构

一、探针系统

传统的液面探针技术检测液面是通过阻抗，或者是测定电容电流。样本探针设计中具有超声波头，而超声波常常受周围环境的影响。当环境污染改变可导致超声波回音码的变化。新的设计是测定频度的变化，因频率的变化可导致相应电流的变化，理想的设计是监督从空气到液面介质应用超声探针，其主要结构是由二部分组成，即驱动和检测电路。驱动电路包括回路锁定振荡器，耦合传动器和反馈电路；检测电路驱动器的输入来源于耦合传动器，降低的电流被转化为电压。当取样时，探针还在空气中，通过打开开关，加入少量电压，导致信号的变化，当探针触及到液面时频率的变化导致运行信号超过了空气信号，信号可被计算机识别。智能化的探针系统包括样本探针和试剂探针，为目前生化分析仪生产商所追求，因而使探针系统不断得到改进。自动液面探针可保证探针的感应装置至液面时会自动停止下降，这既可增加速度也可减少污染。目前最新的智能化探针系统，还具有防堵塞功能，也就是探针能自动探测血液或试剂中的纤维蛋白或其它杂物堵塞探针现象，并可通过探针内压感受器对堵塞进行处理。当探针堵塞时，会移到冲洗池，探针内含有一强压水流向下冲，以排除异物；通过探针阻塞系统报警，可跳过当前样品，进行下一样品的测定。同时防碰撞保护功能可使探针遇到各方向的高力度的碰撞后会自动停止，以保护探针。试剂探针的最低加样量为 1 μ l，最低样本加样量为 0.1 μ l。

二、搅拌和冲洗系统

搅拌系统是指样品与试剂混合后须迅速分布均匀，其目的是更好更快测定其反应系统中的吸光度变化。过去普通的搅拌技术采用的手段如冲入试剂空气或振荡常引起反应液外溢和起泡，导致测定结果的不稳定。目前先进的自动生化分析仪采用搅拌方式为：①使用四头螺旋式搅拌棒，其表面采用特殊不沾涂层，具有不沾异物，无携带污染物的特点；②使用四头螺旋式高度旋转搅拌棒，旋转方向与螺旋方向相反，这样含独特的三头清洗式搅拌系统；③使用搅拌棒为微螺旋式不锈钢，即表面采用“特富龙”不粘涂层，避免液体的粘附，一组搅拌，同时两组清洗，保证搅拌更充分，冲洗更干净，交叉污染减至更低。为了更好的观测，要求样品和试剂的混合必须迅速均匀。以往采用很多手段如冲入试剂或空气，搅拌、振荡方法达到快速混匀的目的，实行起来均有很多缺点，如外溢及起泡，其影响测定。目前先进自动分析仪采用新的搅拌系统。如 OLYMPUS 公司从 AU400 分析仪起采用独创的四头回旋式双重清洗搅拌棒，搅拌棒表面采用不沾涂层，具有不沾异物，无携带污染物的特点。其搅拌为四头螺旋式高度旋转搅拌棒，旋转方向与螺旋方向相反，这样搅拌时比色杯内容物不外溢，不产生气泡，使检测结果更准确。搅拌棒一头搅拌样品或试剂，另外三头分别进行以清洗液清洗，温水自动冲洗及风干，四个步骤同时进行。这样，既加快了冲洗速度，又提高了冲洗质量，使搅拌系统不产生携带污染。采用的分步回旋技术较之传统技术具有更快速、高效、干净、彻底的特点，使测试结果更精确，搅拌棒无需维护保养。对加样探针和比色杯的处理及防止交叉污染很重要，较多是采用冲洗办法。目前有的自动生化分析仪采用新的冲洗系统，即激流式单向冲洗和多步骤冲洗。样品、试剂探针的冲洗采用全新的“激流”（瀑布）式单

式单向冲洗池，水流为从上向下的单向冲洗，将探针携带的污物冲向一排水口（就像人在自来水龙头下洗手）。较之传统的涌泉式（就像人在洗脸盆内洗手，不能完全洗净）冲洗更干净、彻底。该技术用以改善冲洗效果，提高测试的准确性，防止交叉污染。

OLYMPUS AU400 生化分析仪采用先进的温水八步骤自动冲洗比色杯，使用更新的抽干技术，每次冲洗后遗留水量少于 $1\mu\text{l}$ ，然后进行风干，使比色杯冲洗更干净、彻底，防止项目间的交叉污染。为了不影响测定速度，比色杯实行分组冲洗，即测定与冲洗同步进行，随时准备好测定使用的比色杯。通过编码盘测定每个比色杯，自动标出不合要求的比色杯，提示进一步处理。反应盘内装有高质量石英玻璃制成的反应杯，杯子宽度 0.5cm ，使试剂和样品用量大大减小，试剂量在 $200\sim 300\mu\text{l}$ ，样品量 $3\sim 26\mu\text{l}$ 。由于是独立的反应杯，当杯子污染或损坏时，便于取出清洗和更换。

比色杯冲洗八步流程：污染比色杯→加注清洗剂→吸干→加注清洗剂→吸干→加注温水→吸干→加注温水→吸干→加注温水→吸干（残留水量 $< 1\mu\text{l}$ ）→擦干、干燥→干净比色杯。

1. 试剂探针的清洗 如果一个项目的测定与另一个或几个项目的测定试剂有交叉影响，可将有影响的项目登录到试剂探针清洗项的选框中，并设定所需的探针清洗液（水、酸清洗液、碱清洗液以及特殊清洗试剂）。此时分析系统自动回避有影响的分析项目，利用无影响的检测项目穿插在有影响的项目之间。在确定无法回避的情况下，在两个有影响的项目之间清洗试剂探针。这样，虽减低了分析速度，但提高了分析的准确性（最多可设置 16 种有影响的试剂）。

2. 比色杯的清洗 当试剂间的影响涉及至比色杯时，可登录有影响的试剂名称及所需比色杯清洗液（清洗液同上），具体工作原理同上（最多可设置 10 种有影响的分析项目）。

3. 样品探针的清洗 设置此项后，探针在吸取样品前快速清洗自身，可根据不同的检测项目选用合格的清洗液：水、酸清洗液、碱清洗液。

三、恒温系统

全自动生化分析仪一般都设有 30°C 和 37°C 两种温度。温度对试验结果影响很大。因此要求温度控制在 $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ ，两种温度能够互换。目前恒温系统应用较为广泛的是水浴式恒温 and 空气浴。水浴式恒温是温控装置使反应温度控制在 $37^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 的水平，开机后水浴可以自动更换，换水后，仪器自动加入一定量水浴保护剂，其作用有：①使恒温水具有导电性；②抑制细菌生长；③润化比色杯以免产生气泡。测定期间，恒温水浴不断循环转动，通过恒温水的导电性保持恒定的水浴量，通过温控装置保持水温 $37^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 的水平。水浴恒温的优点是温度均匀、稳定；缺点是升温缓慢，开机预热时间长。因水质化（微生物、矿物质沉积）影响测定，因此要定期换水和比色杯。为了加热均匀和防止变质，往往要设置马达循环转动和添加防腐剂。而空气浴恒温的优点是升温迅速，无需保养；缺点是温度易受外界环境影响。恒温系统突破性地采用氟利昂为反应槽恒温。反应杯放置在内部密封有氟利昂的金属环上，机内专门一块温度控制电路板，控制反应恒温，使反应盘内的温度给终在 $30^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 或 $37^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ ，而且变温速度快。通过计算可得出 25°C 时的结果。恒温可靠，使得样品与试剂反应稳定完全，保证检验

数据准确。独创的恒温液循环加温方式，集干式空气浴和水浴的优点。它是在比色杯周围循环流动一种无味、无污染、不变质、不蒸发的稳定液。在比色杯与恒温液间有1mm空气夹缝，恒温液通过加热夹缝的空气达到恒温。这种技术既有水浴恒温温度稳定、均匀的优点，又具有空气浴升温迅速、无需维护保养的优点。恒温液为热容量高、蓄热能量强、无腐蚀的液体，使恒温均匀稳定。加上比色杯为可永久使用的硬质石英玻璃，免得定期更换与保养。

四、反应盘

多数自动生化分析仪均普遍采用塑料比色杯和硬质玻璃比色杯（石英杯）。以往多数生化自动分析仪多数采用塑料比色杯，其透光性差，不易清洁，易磨损，需定期更换。目前的自动化分析仪都改用硬质玻璃比色杯，其透光性好，容易清洁，不易磨损，使用时间长，成本低。仪器有严格的自动冲洗步骤，并进行自动监测。检测出不合要求的比色杯，提醒及时更换。石英玻璃反应杯能够长期使用，检验费用较低。在反应盘上安装清洗站。一项检验项目完成后，反应杯随即被自动清洗，实现了实时清洗。反应杯清洗时，先吸走废液，灌入清水，再吸走清洗液，灌入清水，并自动进行水空白自检，确定反应杯是否清洗干净。水空白自检通过后，由冲洗站吸掉水，由真空吸湿干燥反应杯，再做下面的检验项目。假如反应污染，不能冲洗干净，仪器会自动放弃再次使用该反应杯，并且由电脑发出警告，在屏幕上显示出污染的反应杯所在位置，便于拿出反应杯进一步处理或更换新杯。反应杯的实时清洗，完全避免了人工洗刷，不但可提高仪器的工作效率，而且免除了病毒污染。

五、操作系统

软件采用 Windows - NT 界面、全新彩色图形界面。其可执行检验科及质控管理及参数修改功能，显示所有反应曲线；还可进行项目计算、检测空白修正、相关修正、正常值、报警值、试剂吸光度反应、吸光度检查、异常值未检再检表。这样能实时进行质量控制，监测反应曲线，判断重复测试曲线；控制节省灯源装置；出示试剂应用情况，每日测试统计；进行自动标定及更正因数；应用规定计算测试，进行必要的曲线拟合；运行功能组合测试，编辑和贮存样品和测试的数据，彩色触摸显示屏。方便直观，功能强大，开放式试剂系统，可使用国产试剂及浓缩试剂，并可随意对样品进行预稀释。在窗式显示操作说明、故障说明及其处理方法，令操作者更容易了解和掌握机器，排除故障。仪器备有条码识别系统，可自动识别试剂、样品架及样品编号。同时，实现电脑智能化操作，增加远程通讯功能，即可通过电话线进行远程监控。使用 Windows - NT 界面，可实现遥控远程测试及维修检查，是功能齐全，技术最先进的生化分析仪。

六、光栅系统

无相差蚀刻凹面光栅是当今最先进全息光栅，是生化分析仪核心部分。无相差蚀刻凹面光栅每毫米画线条数达到 4 000 条，检测吸光线性范围达 0~3.2A；光栅使用寿命长，无需任何保养，常固定波长 340、380、410、450、520、570、600、700、750、800nm，结合后分光技术大大降低了杂散光的干扰。目前发展到最先进集束式光路，

光/数码信号直接转换技术，多头回旋搅拌棒，轨道式进行方式等多项新技术，使仪器设计更完美，结果更准确。无相差蚀刻凹面光栅是在 1mm 内刻蚀线达 4 000 条以上，即可以色散，也能够聚光，这样就减少了物镜，避免因多次射和反射所产生的杂散光干扰，从而降低了光学部分出现的故障，并使体积缩小，提高了测定精度。

第四节 全反应过程的测光监控

全自动生化分析仪广泛应用了计算机的智能化功能，在分析试验中可以按每间隔的时间读取吸光度变化值，并记录在计算机中，随时可以读出并加以分析，并可判断分析方法和检查反应界限的吸光度。图 16-17 为 BECKMAN 全反应过程的监视的工作时间流程。

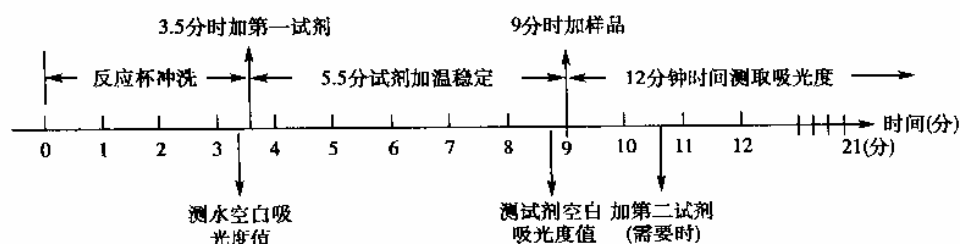


图 16-17 贝克曼全反应过程的监控工作时间流程

为了进一步提高检验结果的准确性，每个反应杯在加入试剂前，先加入去离子水，用一周期 16 秒的时间来测定水空白，并测出水空白的透光率，以此来检查反应杯是否冲洗干净，排出反应杯可能引起的误差。然后加入试剂，搅拌均匀，用 20 个周期的时间，使试剂加热到 30℃ 或 37℃，再进行试剂空白吸光度的测定，将其结果存贮在存储器中；加入样品后，由搅拌针将样品和试剂搅拌均匀，使其充分混合，并开始采集数据，读取反应物的吸光度值，也将其存入到存储器中；由 CPU 计算，从反应物的吸光度值中，减去上面所测的水空白和试剂空白的吸光度值，最后得出精确的检验结果。

仪器的反应盘连续旋转，依次冲洗每个反应杯，同时有 4 个反应杯处于冲洗站下面，进入清洗区。冲洗用 3.5 分钟，在 3.5 分钟前的一个周期内，依次测定反应杯的空白吸光度值。到 3.5 分钟时，已冲洗完并干燥的某个反应杯正好位于试剂探针下面，有试剂探针加入该杯所要做的项目的特定试剂，经过 20 个周期的时间加温稳定，并在此段时间内测出试剂空白吸光度值。经过 5.5 分钟到达 9 分钟时，该杯正好位于样品探针处，加入样品，由搅拌针搅拌均匀，使样品和试剂充分反应，经过 12 分钟的时间采集样品吸光度值，得出最终结果。某些试验还需加入第二试剂，甚至第三试剂，也将在这 12 分钟内完成。

一个杯子从清洗到加入试剂、样品、甚至最终读出数据，一共需要 21 分钟。80 个杯子依次进行某种工作，有的正在冲洗，有的读空白，有的加试剂和样品，在微机控制下同时完成多种作业，有条不紊地旋转，并能保证检测精确度。终点法的全反应控制是通过设定的反应时间，使样品和试剂充分反应，达到平衡，产生出稳定的生成物，在达到反应终点时，测定生成物的吸光度值。从理论上说，这时的吸光度值应该稳定不变。图 16-18 为终点法反应曲线的吸光度和时间图。图中 T_w 叫读数窗时间，指反应达到

线性判断标准要求的情况下，微机采集读数的时间范围。

动态法全反应控制系统是按下列说明采集数据，经过孵育期、延滞期后，酶促反应将进入恒速，这时开始读取吸光度，测出是在单位时间内吸光度的变化率 ΔA ，微机是在反应的线性段开始读数，以避免延滞期及其它因素的干扰。若采集的数值经计算超过线性限度，微机会作为噪声信号自动除去。图16-19为动态法分析的反应曲线时间变化示意图。试剂类型不同，检测项目不同，测定过程中读取吸光度的时间及计算方法有所区别。

日立自动生化分析仪采用全反应过程测光方式，在3~10分钟的反应时间内每隔一定时间测定一次反应液的吸光度。例如，在反应有10分钟内测定34次吸光度，测定点是测定了各个吸光度的顺序号。反应盘约18秒转动1圈为4个反应杯的距离，在此期间，所有160个反应杯在通过光度计的光路时的吸光度均被测定出来。测定点、加试剂时间和搅拌时间如图16-20、16-21。旋转1圈+4个反应杯，1圈18秒吸样4次。

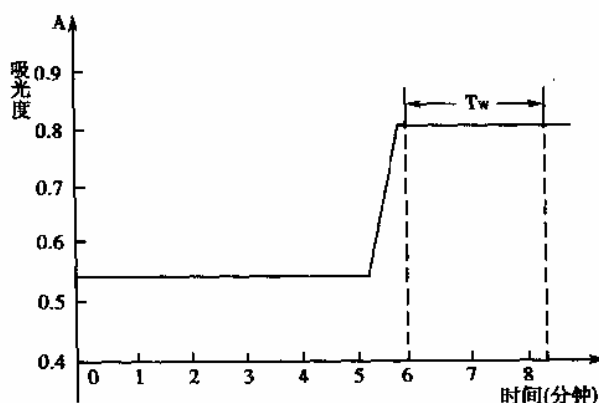


图16-18 BECKMAN分析仪终点法全反应过程

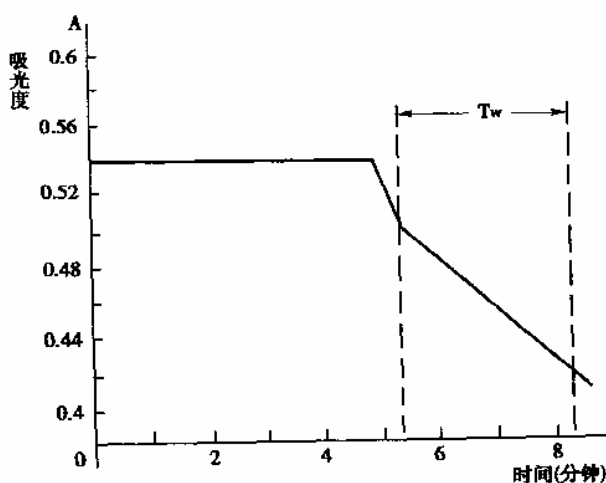


图16-19 BECKMAN分析仪速率法全反应过程

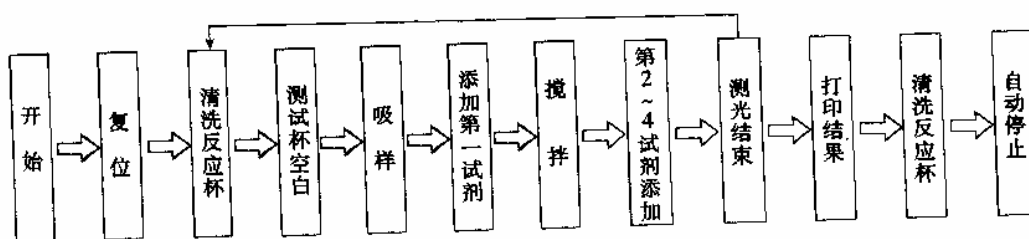


图16-20 日立测试流程图

水空白测定：清洗机先从第一号反应杯开始清洗，反应盘转一圈+4个反应杯的距离为一个循环，每个循环先转动37个反应杯，然后再转动4个杯位置停止，共重复4

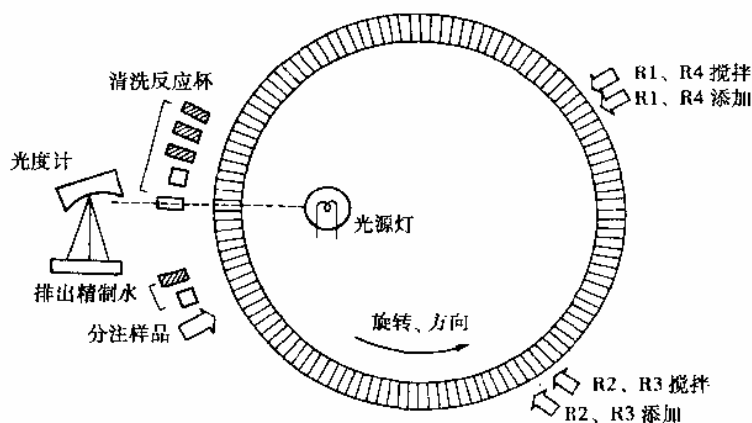


图 16-21 全反应进程测试方式

次（160+4 个反应杯）。反应杯通过测光部分时测定水空白值，清洗站吸去反应杯内的无离子水，此值用作以后测定吸光度的基准值。

测定过程：反应杯、样品杯旋转至吸样的位置，试剂也同样转至吸量的位置。样品探针从样本杯内吸取一定量的样本转移至反应杯底，样本探针在清洗槽用无离子水冲洗内外壁，若下次吸样是同一样本即省去清洗样本探针的步骤。反应盘旋至加试剂 1 的位置，此时试剂 1 的试剂探针从第一试剂（R1）吸取一定量的试剂。在反应盘旋至暂停，将第一试剂注入反应杯中，然后，反应盘转 4 个杯子的距离后再暂停，搅拌棒对样本和第一试剂进行搅拌混合。同时，试剂探针 1 在清洗槽用无离子水冲洗内外壁。加入第一试剂后测光开始，测光是在反应盘旋转时光通过反应杯的横断面进行。反应杯转至 5 个循环+37 位置，这时反应时间是 78.65 秒，由试剂探针 2 对将一定量的第二试剂（R2）注入到反应杯中，然后，反应盘继续转至 4 个杯的距离暂停，搅拌棒对样本和第二试剂进行搅拌混合。反应杯转至 15 个循环+160 位置，这时反应时间是 270.09 秒，由试剂探针 2 将一定量的第三试剂（R3）注入到反应，然后，反应盘转 4 个杯子的距离后再暂停，搅拌棒对样本和第四试剂进行搅拌混合。反应杯转至 32 个循环+119 个杯子位置，这时反应时间是 569.58 秒，由试剂探针 1 将一定量的第二（R4）注入到反应杯中，然后，反应盘继续转 4 个杯子的距离后再暂停，搅拌棒对样本和第四试剂进行搅拌混合（图 16-22、16-23）。

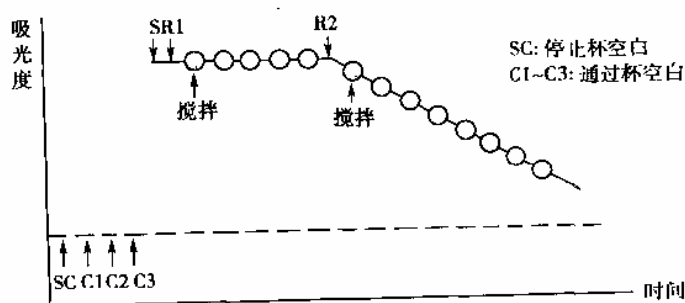


图 16-22 全反应过程实时曲线

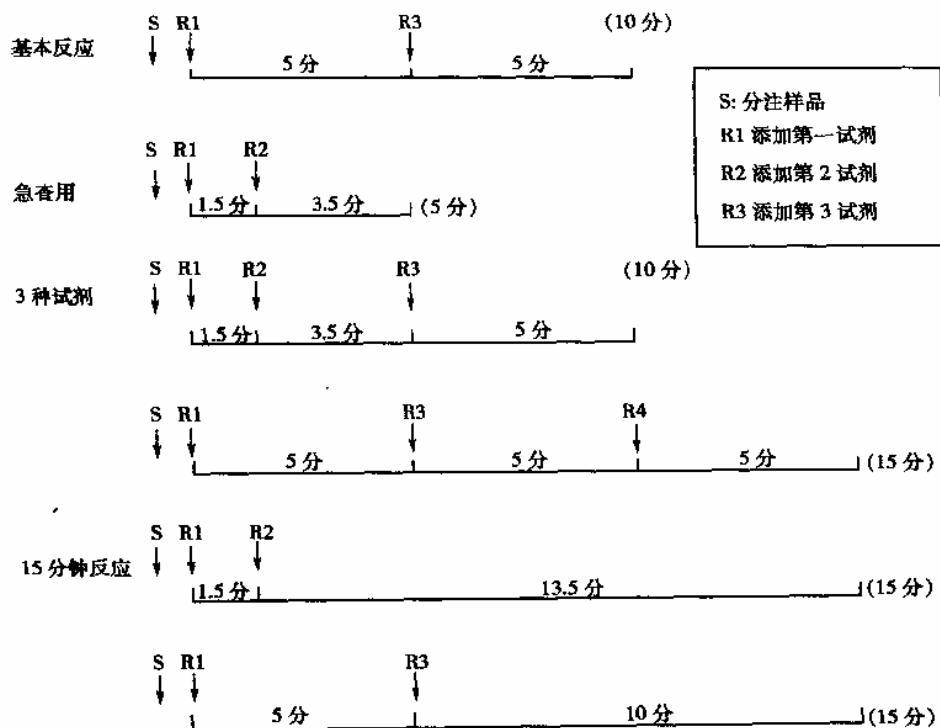


图 16-23 日立 7170A 反应时间与注入试剂时间关系

测定后处理：10 分钟反应结束后，清洗站将反应杯内的反应液吸出，排入仪器的废液桶中。空反应杯注入清洗液开始进入下一个清洗流程，清洗后测水空白以备下一次测定时使用。反应 10 分钟，测光部从 34 个测光点取得相应的吸光度和吸光度变化值，待一个样本测定数据全部完成后，打印结果。

第五节 自动生化常用分析方法

一、一点法

加入试剂后，在测定时间中指定 1 点测定出相应吸光度值来求得待测物质浓度的方法，如图 16-24 所示。

测定吸光度 $A_x = (A_l + A_{l-1})/2$ 。这时不进行样品空白补偿的终点法，主要用于 TP、Alb、Glu、TG、Cho 等项目测定。

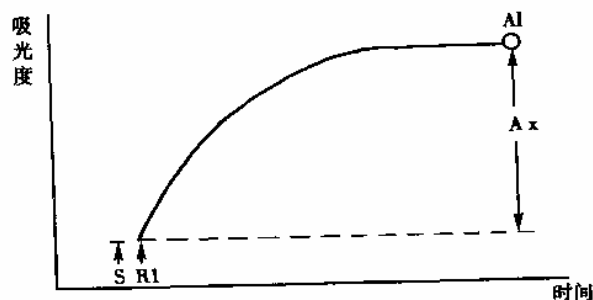


图 16-24 一点法的反应过程

二、二点法

在不同的两个测定点（ l 、 m ）测定得到的吸光度，利用二者差值来扣除样本空白，这样求得测定物质的方法，如图 16-25 所示。

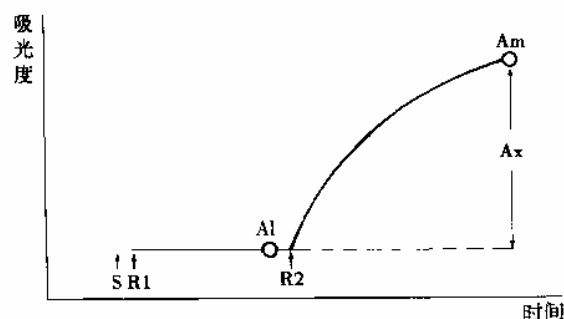


图 16-25 二点终点法的反应过程

测定的吸光度 $A_x = (A_m + A_{m-1})/2 - k(A_l + A_{l-1})/2$ 。其中 k 为体积补偿系数， $k = (S + V_l)/(S + V_m)$ 。这是进行样本空白补偿的终点法，分析项目常用于 Cho、TB、Dil、TC、Ca 等。

三、二点速率分析法

即用两个不同测定点决定每分钟吸光度的变化量，通过吸光度的变化求出样本中待测物质含量或活性的方法，如图 16-26。

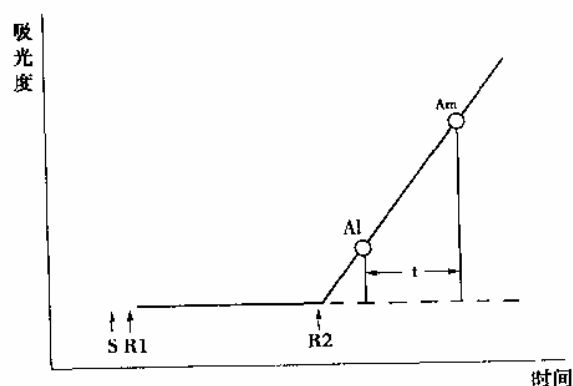


图 16-26 二点速率法的反应过程

测定吸光度为 $(A_m + A_{m-1})/2 - A_l + A_{l-1}/2 / (t_m - t_l) = \Delta ABS / \Delta t$ 。这是观察 2 点间的吸光度变化量的分析方法，其适用项目为 Cr (Jaffe 法)。

四、速率 A 法

通过不同的两个测光点，用最小平方二乘法求出每分钟吸光度的变化，通过吸光度

变化测定待测物质的浓度或活性，此法常用于酶类的测定，其还可进行样本空白校准。如图 16-27。测试吸光度为 $\Delta\text{ABS}/\text{MIN}$ （用最小平方二乘法使之直线化）。这是不进行内在反应补偿的速率法，其分析项目如 AST、ALT、CPK、AMY 等。

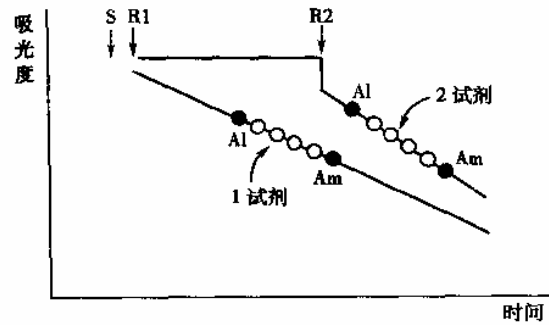


图 16-27 速率法的反应过程

第六节 自动生化分析仪的校准方法

一、k 因数法（线性 1 点法）

由空白液的标准（C1）和通过公式计算得出的 k 因数制成的曲线，原理见图 16-28。k 因数法测定 C1（试剂空白）的吸光度时，先输入 k 值再计算浓度值： $CX = K(Ax - B) + C1$ 。其分析项目：适用各种酶活性的测定。

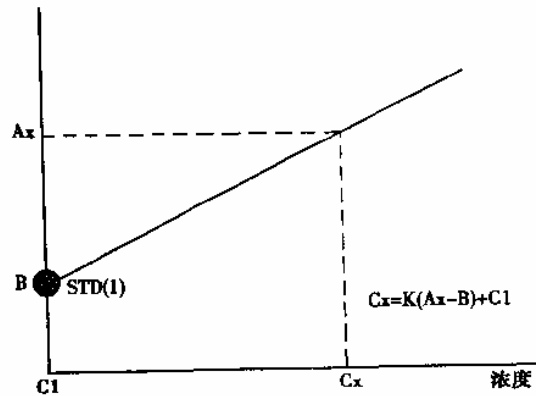


图 16-28 k 因数法

二、线性 2 点法

由空白液和含有一定浓度标准液的标准（2）的两点吸光度绘制的曲线，也称两点直线性。图 16-29 为线性 2 点法的标准曲线。测定 C1（试剂空白）、C2（标准液）的吸光度 B、A2，仪器自动计算 k 值， $k = (C2 - C1) / (A2 - B)$ ，计算公式： $CX = K$

$(Ax-B)+C1$ 。此法适用所有的分析方法包括 1 点法、2 点速率法和速率法。

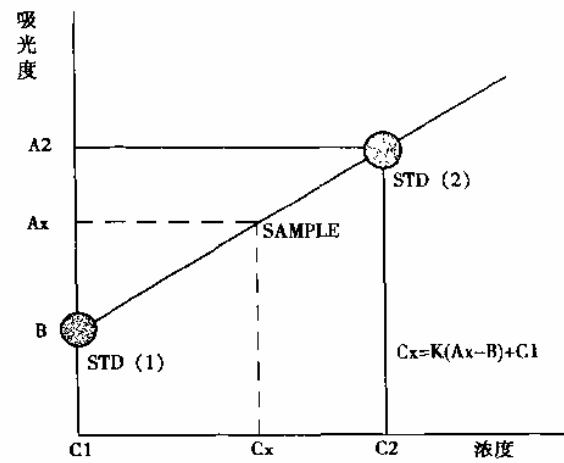


图 16-29 线性 2 点法标准曲线

三、非线性法

可以使用 3~6 种浓度的某标准物，在选定波长测定出各自的吸光度，利用浓度和吸光度之间的关系绘制成非线性标准曲线。图 16-30 为非线性的标准曲线。测定 $C1 -$

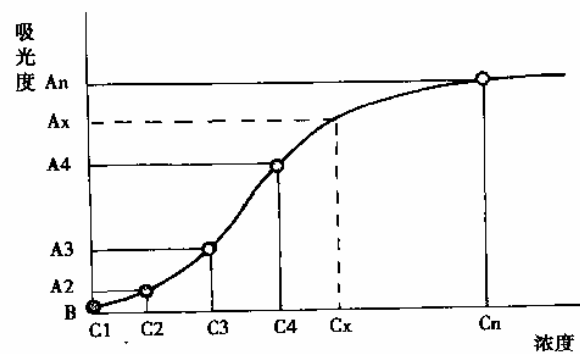


图 16-30 非线性法的标准曲线

Cn (标准液) 的吸光度 $B - An$ 。仪器采用 Logit - log Exponential Spline 进行拟合式的计算出曲线各常数。适用分析项目为免疫项目、CRP、ASO、RF、药物等。

第七节 液体双试剂

一、临床生化检测试剂的发展史

随着科学技术及生化分析仪的进一步发展，临床生化检测试剂的发展同样经历了 4

个阶段。即第一代产品是在 20 世纪 40~50 年代,各医院实验室通常自行配制简单试剂,能开展的生化检测的方法及检测项目十分有限。由于无法统一标准,准确性极差。第二代产品出现在 20 世纪 50~70 年代,这时期的生化试剂往往要配制多种试剂,使用前临时配制在一起。由于受多种技术的限制,稳定性很差,多数在冰箱内只能保存数天。并且操作烦琐费时,容易加错试剂。第三代产品是干粉剂型生化试剂,即 20 世纪 70 年代开始人们开发研制冻干试剂,后又发展成干粉试剂,其优点是可以较长期的保存,又便于运输。冻干试剂是先将各种化学试剂溶解混合后,分装成不同试剂的瓶内,再经冻干处理,但冻干试剂中残留的含水量不易精确控制,造成瓶间差较大。干粉试剂是用将各种干燥的化学试剂直接混合加工而成,各瓶内试剂中所含水量均一。但冻干和干粉生化试剂在用前要复溶,复溶时水质及其加入量要求很高,复溶后保存期短,稳定性差,常常造成浪费,同时不能抗干扰。如测定尿素的酶法试剂盒,易受样本中的内源性 NH_4 及复溶时所用蒸馏水中的外源性 NH_4 等干扰。测定血清 ALT 时,将不同试剂成分混合在一起, NADH 下降较快,影响试剂的稳定性。第四代产品是 20 世纪 80 年代末出现的液体双生化试剂。由于自动化分析仪的进步和试剂稳定技术的发展。已研制成功液体生化试剂,其分为单一试剂和双试剂,这种最新生化试剂的生产技术,使各种原来不易保存的生化试剂,不稳定的酶和辅酶能够在水溶液中长期保存,其优点是准确、稳定性好;抗干扰能力强,无需复溶,使用十分方便,不易浪费。而且使用前无需准备,可直接上机使用,并同样适用于手工法。

二、双试剂的优点

目前试剂和生产厂家生产两组试剂型的试剂盒。所谓双试剂是将反应体系的全部试剂分成两大组分,即第一试剂先与被检样本中的干扰物质反应,使其被扣除,然后加入第二试剂,样本中的被检物质与反应体系中的试剂起反应,再进行测定。在分析仪中测定过程分两步进行。图 16-31, 32 为单双试剂系统示意图。另外,为了配合生化分析仪的功能,除了双试剂,也有多试剂盒。液体双试剂有如下优点:

(一) 抗干扰反应能力强

在临床生化测定过程中,血标本本身成分十分复杂,除了含有待测物质外,还含有各种酶、有机物、无机盐等物质,这些物质都会干扰或参与测试反应,引起非特异性干扰反应。为了克服这种干扰反应。将试剂盒分为两组试剂。

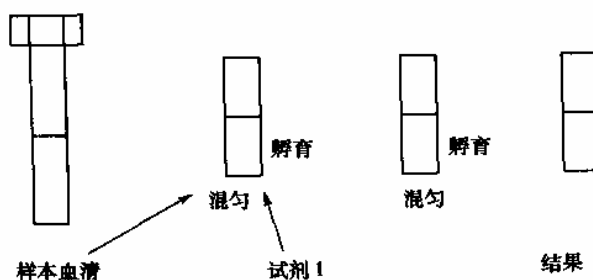


图 16-31 单试剂系统示意图

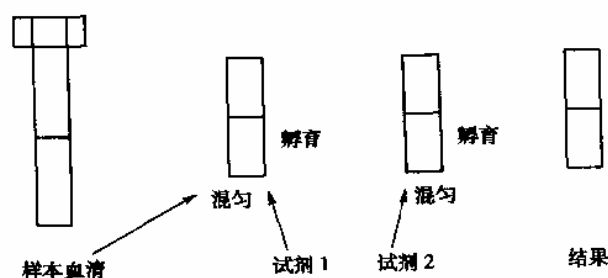


图 16-32 双试剂系统示意图

在测定过程中，试剂 1 与标本中的干扰物反应，使其消耗，再用试剂 2 启动真正的测试反应进行测定。这种将测定过程分为两步进行，将反应体系的全部试剂分成两大组分的，试剂盒称为双试剂型试剂盒。下面举例加以说明。例一：尿素氮的酶法测定。此测定通过二步化学反应来完成。

(1) $\text{NH}_4 + \alpha\text{-酮戊二酸} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{谷氨酸脱氢酶}} \text{谷氨酸} + \text{NAD}^+ + \text{CO}_2$ (试剂 1 与血清反应)

(2) $\text{尿素} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{尿素酶}} \text{NH}_4 + \text{CO}_2$ (试剂 2 启动尿素的测定)

$\text{NH}_4 + \alpha\text{-酮戊二酸} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{谷氨酸脱氢酶}} \text{谷氨酸} + \text{NAD}^+ + \text{CO}_2$

在 340nm 下监测吸光度值的变化，与同样处理的尿素标准比较，计算出样本尿素含量。试剂 1 与血清反应的作用是使样本中（如血清、尿液）含有内源性 NH_4 消耗 NADH；复溶试剂时所用蒸馏水如含有 NH_4 或所用器材不够清洁被 NH_4 污染（外源性 NH_4 ），也可消耗 NADH；当样品中（如溶血）含有较高的丙酮酸时，血清中的乳酸脱氢酶会催化下列反应： $\text{NADH} + \text{丙酮酸} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{乳酸} + \text{NAD} + \text{H}_2\text{O}$ 也会消耗 NADH。而加入试剂 2 的作用为：因第一试剂含 $\alpha\text{-酮戊二酸}$ 、NADH、丙氨酸脱氢酶及维持 pH 的缓冲物质。第二试剂含脲酶、 $\alpha\text{-酮戊二酸}$ 、NADH。当被检样品加入第一试剂在 37℃ 作用 5 分钟，将内源性 NH_4 、外源性 NH_4 、内源性丙酮酸消耗掉。接着加入第二试剂使样品中的尿素被脲酶水解成 NH_4 ，再进行第二反应， $\text{NH}_4 + \alpha\text{-酮戊二酸} + \text{NADH} \rightarrow \text{谷氨酸} + \text{NAD}^+ + \text{CO}_2$ ，NADH 量与尿素量成正比，这一反应的第二步特异性高，脲酶只对样品中的尿素起催化作用。测定中分析仪记录这部分的 NADH 在 340NM 吸光度变化，这就保证了尿素测定的准确性。

双试剂抗干扰的作用还表现在其它生化项目上。如测定甘油三酯的双试剂中，第一试剂能除去游离甘油的干扰。酶法测定代谢产物的测定，如葡萄糖、尿酸、甘油三酯、胆固醇、HDL 采用的 Trinder 反应，此指示反应的特异性较差，受到血标本中的胆红素、VitC 的干扰，导致结果的阴性偏差。其中为了克服胆红素的干扰，国内外部分试剂在试剂 1 中加入铁氰化钾或胆红素氧化酶，先作用黄疸血清使其氧化无色，而后再加反应试剂 2 完成反应测定，消除黄疸的影响。若有 VitC 的影响和干扰试剂 1 中加入 VitC 氧化酶时，样本和试剂 1 先反应，便可克服标本 VitC 的干扰；当抗干扰反应完毕后，再加入试剂 2 启动反应，从而使得整个反应的特异性大大增强，准确度也相应提高。测定 ALT 的双试剂，第一试剂中含 NADH，LDH，第二试剂中含 L-丙氨酸和 $\alpha\text{-酮戊二酸}$ ，当样本加入第一试剂，37℃ 作用 5 分钟后，将内源性丙酮酸的干扰作用除掉，再加入第二试剂，启动 ALT 反应，测定 ALT 活性。测定 AST 的双试剂，第一试剂中含 NADH，LDH，苹果酸脱氢酶，第二试剂中含 L-门冬氨酸， $\alpha\text{-酮戊二酸}$ 。当样本加第一试剂作用后，排除了内源性丙酮酸的干扰作用。

(二) 增强了工作试剂的稳定性

许多酶法测定试剂盒为冷冻干燥试剂，在 4℃ 保存一般稳定期在 1 年以上。但复溶后的工作试剂的稳定性差，如 ALT 测定工作试剂 4℃ 只能保存一周，AST 测

定工作试剂 4℃ 只可保存四天。而液体双试剂则使稳定性大大延长, 如 ALT、AST 测定的液体双试剂在 4℃ 可稳定一年。液体酶法试剂从配制上解决了这一矛盾: ①用户可根据每次标本量多少按一定比例配制适量工作液, 当天配制当天用完, 这样便可减少试剂损失。②如果用户使用的自动生化分析仪有双试剂测定功能, 那么, 就不必把双试剂混合成工作试剂进行测定, 试剂的有效期一年便是工作液的有效期。

对于干粉、片剂型等需复溶的生化试剂, 水质的好坏直接影响了复溶后工作液的稳定性和测定重复性。目前除了一些三级医院有自制的试剂级的蒸馏水外, 其他医院很难获得符合试剂级要求的水, 这就对干粉、片剂试剂的实际使用造成了一定影响。目前临床化学检测中许多项目已经开始用酶法进行分析测定, 而试剂中许多酶在水溶液中是比较“脆弱”的, 许多杂质都会影响酶活力, 如①水中 F^{-} 会引起某些酶失活; ②水中的重金属离子会影响酶活力; ③水中某些微生物会引起酶失活, 除了水中某些“杂质”会引起试剂中酶失活、部分失活可导致酶的稳定性、重复性下降外, 有些“杂质”会直接影响测定结果, 如水中含有 NH_4 便会直接影响尿素氮测定的准确度。全液体型生化试剂, 在使用过程无需任何辅助试剂及蒸馏水, 这就保证了避免了外源水质而引起的对试剂的影响, 保证了试剂在有效期内的稳定和测定结果的可靠。

(三) 液体型生化试剂提高了测定结果的重复性

试剂组分的高度均一性, 提高了测定结果的重复性, 避免了瓶间差, 试剂中每一组分均一性是影响试剂测定重复性的一个重要因素。在干粉、片剂与冻干生化试剂生产过程要使每一试剂中十几种组分(有的组分含量相当微量)分布相对均匀也是一个技术难度较高的课题。在每一种试剂生产过程中必须解决: ①原料干粉生产过程中每一个组分的均匀性(冻干生化试剂在冻干分装前由于是液体的, 每个组分是相当均匀)。②在分装过程中由于加样误差引起的均匀性(这一问题在冻干分装过程中同样存在, 在片剂生产过程中体现为每一片剂重量误差)。③在使用过程中, 由于需加入复溶水, 水的加样误差也会造成瓶与瓶之间同一组分浓度不尽一致。上述三个原因或其中一个原因都会造成实际测定过程中的瓶间差, 从而引起测定重复性下降。液体型的生化试剂从生产到使用全是液态, 这就保证了每一个组分相对均匀, 哪怕是十分微量的组分, 这就避免了实际操作中的误差, 能提高试剂测定的重复性。

三、常见生化检测项目的双试剂的组成

(一) ALT、AST

凡液体试剂, 所有厂家, 都将其分为试剂 1 (R_1) 和试剂 2 (R_2), 因为还原辅酶 I (NADH) 的不稳定性, 不可能将所有试剂成分都放在一个液体中, 都采用特殊措施将还原辅酶 I 单独分开保存。关键的问题是还原辅酶 I 放在 R_1 中还是 R_2 中, 乳酸脱氢酶 (LDH) 是否与原还辅酶 I 放在一起。如果还原辅酶 I 不放在 R_1 中, 不首先与血清作用, 就失去二步法测定的意义。在 R_1 中 NADH 与 LDH 不放在一起, 也同样起不到消除样品内源性底物的干扰。还原辅酶 I 不放在 R_1 的液体双试剂, 在消除样品内源性底物干扰方面并不比单试剂(一步法)好。

(二) α -HBDH

此试剂盒是用羟丁酸作底物，NADH 作辅酶测定 LDH₁、LDH₂ 同工酶的活力。要将此试剂盒变成液体，最大问题是 NADH 在液体状态下，易产生乳酸脱氢酶的抑制剂，使得测定值变小。随着液体试剂存放时间的延长，测定值也越来越低。

(三) ALP、 γ -GT

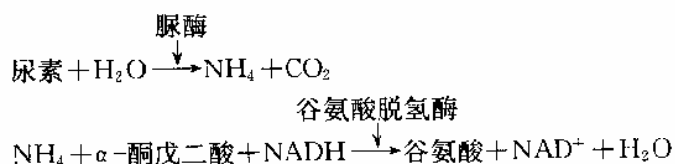
ALP 作为液体试剂、最大的技术难点是酶促反应底物对硝基苯磷酸在溶液状态下极不稳定，特别在遇热或光照情况下很快分解。完全按照 IFCC 推荐方法配制，即 AMP 浓度为 350mmol/L，对硝基苯磷酸为 16 mmol/L。 γ -GT 情况同 ALP，液体试剂最大困难是底物 γ -谷氨酰-3-羟基-4-硝基苯胺的稳定性。

(四) CK-NAC

酶法试剂盒做成液体试剂有两个品种最为困难，其中之一就是 CK。它的困难之处是试剂成分多（有 14 种成分），有：酶、辅酶、激活剂、抑制剂以及其它底物，各成分间性质不同，要使溶液中每个成分都保持稳定是件难以克服的问题。

(五) BUN

反应原理：

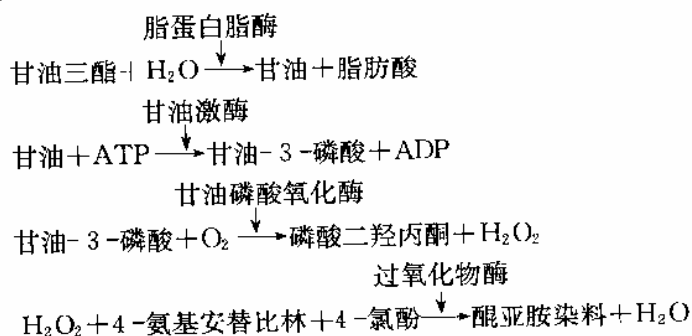


从反应式看，血清中的 NH_4 是干扰物，因此液体试剂应将 NADH 和 α -酮戊二酸放在 R_1 中，首先与血清反应，以消除内源性 NH_4 对测定的干扰。

NADH 和 α -酮戊二酸放在 R_1 中比放 NADH 在 R_1 中更不稳定。

(六) TG

反应原理：



以上反应可以看出，前三步反应专一性强，不会引起样品对测定的干扰，而第四步反应专一性差，样品中很多物质，如：胆红素、VitC 都可以使 H_2O_2 还原，从而使测定值偏低。另外，样品浊度也影响测定结果。TG 中的在 R_1 中加入 VitC 氧化酶和亚铁氰化钾以消除 VitC 和胆红素的干扰。因为 TG、Chol、UA、Glu 均为 Trinder 反应，均受胆红素、VitC、溶血的干扰，见表 16-3。

表 16-3 样品对 TG、Cho、UA、Glu 的干扰

干扰物	TG	Cho	UA	Glu
胆红素	✓	✓	✓	✓
VitC	✓	✓	✓	✓
溶血(血红蛋白)	✓	✓	✓	✓
浊度	✓	✓	✓	✓

TG、Chol、UA 和 Glu 都使用 Trinder 反应, 波长均在 500nm, 干扰物相同, 加亚铁氰化钾, VitC 氧化酶消除胆红素, VitC 的影响。浊度可通过仪器双波长加以消除。

四、全自动生化仪采取二步法测定的意义

(一) 双试剂与单试剂的区别

1. 试剂的组成 双试剂是由两个试剂部分组成, 称试剂 1 (R_1) 和试剂 2 (R_2) 双试剂又可分为干粉双试剂和液体双试剂。单试剂一般也有两个试剂部分组成, 试剂 1 为缓冲液, 试剂 2 为干粉 (或冻干粉), 或者仅由一个试剂部分组成, 即一个干粉瓶, 用时加重蒸水即可。

2. 测定步骤 双试剂用于全自动分析时常采用二步法。

测定过程: 血清 + $R_1 \xrightarrow{5\text{分钟}} R_2 \xrightarrow{5\text{分钟}}$ 结果

血清 + $R_1 \rightarrow$ 排除样品干扰, 为第一步

血清 + $R_1 + R_2 \rightarrow$ 启动并进行测定, 为第二步

单试剂用在全自动, 半自动以及手工操作上, 均采用一步法。

测定过程: 试剂 + 血清 $\rightarrow$ 结果

试剂为一个整体, 也可以分为两个部分, 如果由两个部分组成, 应预先按比例混合成一种试剂, 加血清即可测定, 此称一步法。

3. 启动剂 双试剂用底物启动, 单试剂用血清启动。

(二) 测定时采用一步法还是两步法

测定的不准确性来自两方面, 即试剂本身的干扰和样品干扰

1. 试剂本身的干扰 试剂盒是由多种试剂组成, 试剂本身的纯度对测定准确度关系甚大。例如: ALT 试剂盒中, 要加丙氨酸, α -酮戊二酸, 乳酸脱氢酶和辅酶, 特别是乳酸脱氢酶, 所含 ALT 和谷氨酸脱氢酶杂酶的量对测定结果影响甚大。IFCC 推荐法中要求, 乳酸脱氢酶中所含以上两种杂酶的量要控制在十万分之一, 否则不能使用。

排除试剂本身的干扰是厂家的责任, 出厂时试剂空白吸光值都应小于 0.003/分, 例如: ALT 试剂, 试剂空白一般在 0.001, $0.001 \times 1746 = 1.74 \text{U/L}$, 即试剂空白引起的误差 $\approx 1.7 \text{U/L}$ 左右, 可以忽略。

2. 样品干扰 试剂干扰通过试剂配制解决, 样品干扰有的可通过试剂配制消除, 有的则必须通过仪器测定步骤来消除, 从动力学测定的几个试剂盒看样品干扰 (表 16-4, 16-5)。

表 16-4 样品干扰物样品干扰物

酶	ALT	AST	LDH-L	α -HBDH	CK AK 6-GPDH	ALP	γ -GT	BUN
代谢物	丙酮酸 NH_4	丙酮酸 NH_4	—	酮酸类	ATP	—	—	NH_4

表 16-5 非测定成分对样品干扰程度

测定物	非测定成分对样品干扰程度	样品空白
ALP	小	免
γ -GT	小	免
α -HBDH	小	免
LDH-L	小	免
BUN	中	要
CK	大	免
ALT	大	要
AST	大	要

CK 的干扰主要来自血清中的腺苷激酶 AK, 这个干扰在 IFCC 推荐方法中已充分重视, 加了足以使其抑制的两种抑制剂—AMP、AP5A。从终点法测定试剂盒看样品干扰 (表 16-6)

表 16-6 样品非测定成分干扰物

	TG	Chol	Glu	UA
干扰物	胆红素	胆红素	胆红素	胆红素
VitC	VitC	VitC	VitC	VitC

3. 如何排除这种干扰

(1) 采用一步法排除干扰 (表 16-7)

表 16-7 四种方法允许干扰物最大浓度 (mg/dl)

干扰物	TG	Chol	Clu	UA
血红蛋白	150	200	200	100
VitC		5	5	5
胆红素	20	10	40	20
甘油三酯		1 000	1 000	1 000

一些著名厂家采用这种方法, 他们的 TG、Chol 都采用一个试剂, 除了高血脂、溶血、黄疸外, 血清所含干扰物: 血红蛋白、胆红素、甘油三酯都低于以上规定值, 因此采用一步法测定完全可以。

(2) 采用二步法排除干扰: TG、Chol、UA 和 Glu 测定最终都形成 H_2O_2 , 样品中

的 VitC、胆红素易使 H_2O_2 还原,影响测定结果,出现假阴性,为排除此种干扰,双试剂 R_1 中加入 VitC 氧化酶和亚铁氰化钾,通过二步法测定,充分排除 VitC 和胆红素的干扰。

如果干扰物不能够预先排除掉,那么通过二步比色测定,最后相减来排除,如胆红素的测定(主要是血红蛋白干扰)和游离甘油对甘油三酯的干扰的测定。

1) 双试剂进行二步测定,对于消除样品非测定成分的干扰有效,但试剂组成上, R_1 必须含有消除干扰的必要成分。

2) 有些动力学方法测定试剂盒,如: ALP、 γ -GT、LDH-L、 α -HBDH 属单底物,专一性强,样品中非测定成分对测定反应的干扰微弱,因此既可用一步法测定,也可用二步法测定。

3) CK 测定,干扰主要来自腺苷激酶,试剂中已加足够的抑制剂,因此二步法或一步法测定均可。

4) ALT、AST,一般应强调二步法测定,有效去除样品干扰。但是有的厂家加了足够的 LDH 酶,通过一步法测定中的迟时间也可消除样品干扰。

5) BUN 二点法测定,用二步法测定为好,如果血清是新鲜的,用一步法测定也是允许的。

6) TG、Chol、UA、Glu 既可用二步法测定,也可用一步法测定。胆红素,去除游离甘油的 TG 测定,则必须用二步法进行。

摘 要

自动生化分析从 20 世纪 50 年代初开始发展至今是医学检验领域自动化发展最快、最成熟、最完善的领域和学科。自动生化分析是集自动化技术、光学、微电子技术学、计算机科学和临床生化分析的进样、稀释、混合、反应、比色、分析过程的监控和数据记录、计算、打印于一体的自动分析系统。自动生化分析系统经历了连续流动式自动生化分析、离心式、分离式、模块式和全自动生化分析系统的发展过程,其检测试剂也经历了自配试剂、多种试剂单独配制、干粉试剂和液体试剂(包括单一和双试剂)四个发展阶段。由于自动生化分析的迅速发展,其现在已发展为临床化学、临床免疫学、感染血清学、临床药物分析于一体的自动分析系统。本章从自动生化分析仪发展历史、自动生化分析仪的测定原理包括光学与分析原理、到自动生化反应全反应过程的测光监控、自动生化的分析方法、校准方法及自动生化分析的试剂发展予以详细介绍。可以肯定自动生化分析的发展对整个医学检验领域的发展起到了积极的推动与促进作用。

生化分析仪是临床诊断常用的重要仪器之一。它是通过对血液和其他体液的分析来测定各种生化指标,如血红蛋白、胆固醇、肌肝、转氨酶、葡萄糖、无机磷、淀粉酶、白蛋白、总蛋白、钙等。同时结合其他临床资料进行综合分析,可帮助诊断疾病,并可鉴别并发因子以及决定今后治疗的基准等。

近几十年来,随着科学技术特别是医学科学的发展,各种自动生化分析仪器和试剂均得到很大发展,生化分析由手工操作进入机械化、自动化阶段。自动生化分析仪器的特点是精度高,可达 $0.002A$;重复性好,可达 $0.001A$;功能齐全,可进行吸光度、浓度和酶活力的测定,能使用终点法、动力学法和初速度法进行分析,测试项目多。另外,自动生化分析仪还有快速、简便、微量等优点。因此,自动生化分析仪在实验室和临床检验中均得到了广泛的应用。

生化分析仪的种类较多,可从不同的角度进行分类:

1. 按反应装置的结构可分为连续流动式、分立式和离心式3类。
2. 按自动化程度可分为全自动、半自动和手工型3类。
3. 按同时可测定项目可分为单通道和多通道两类。单通道每次只能检测一个项目,但项目可以更换。多通道每次同时可以测多个项目。
4. 按仪器的复杂程度及功能可分为小型、中型和大型3类。小型一般为单通道、半自动及专用分析仪;中型为单通道(可更换几十个项目)或多通道,常同时可测 $2\sim 10$ 个项目;大型均为多通道仪器,同时可测10个以上项目,分析项目可自选或组合,不仅能进行临床生化检验,而且可进行药物监测及进行免疫球蛋白的测定。
5. 按规定程序可变与否,可分为程序固定式和程序可变式两类。

第一节 工作原理及基本结构

所谓自动生化分析仪就是生化分析中的取样、加试剂、去干扰物、混合、保温反应、检测、结果计算和显示,以及清洗等步骤都能自动完成的仪器,实现自动化的关键在于采用了微机控制系统。

目前,绝大多数生化分析仪都是基于光电比色法的原理进行工作的。其结构可粗略地看成是由光电比色计或分光光度计加微机两部分组成。由于整个测试过程是自动完成的,因此除微机外,在采样、进样、反应等过程使用了一些特殊的部件。下面按其结构作一简要介绍。

一、连续流动式自动生化分析仪

图5-1是单通道连续流动式生化分析仪的结构示意图。在微机控制下,通过比例泵将

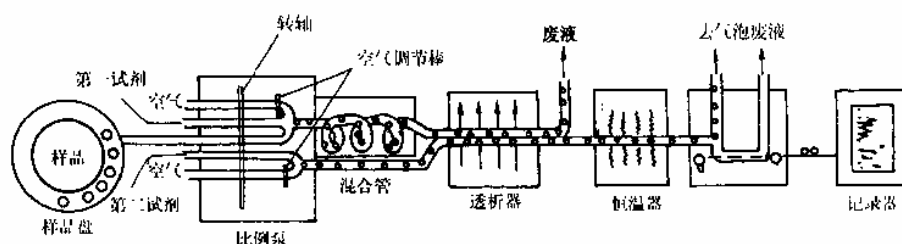


图 5-1 单通道连续流动式生化分析仪的结构示意图

标本和试剂吸到连续的管道系统中，在一定的温度下，在管道内完成混合、去除干扰物、保温反应、比色测定、信号放大及运算处理，最后将结果显示并打印出来。因为这种检测分析是一个样品接着一个样品在连续流动状态下进行的，故称之为连续流动式分析仪。

这类仪器中，样品和样品之间可用空气来隔离，也可用空白试剂或缓冲液来隔离。用空气分隔的叫空气分段式系统，用空白试剂或缓冲液分隔的叫非分段式系统。下面介绍图中主要部件。

1. 样品盘(加样器)

为一可转动的圆盘状架子，在圆盘上放若干聚乙烯塑料杯(或试管)，用以盛放待测样品和校正仪器用的标准液。在程序控制器的控制下，转盘的移动与采样管上塑料软管探头的活动同步，即圆盘每隔一定时间自动转动一格，采样管吸取一次样品。依次类推，可按仪器的分析速度选用 30 份/h、40 份/h、50 份/h 等。每个样品(或标准液)之间要以空气泡或蒸馏水隔开，或吸取少量生理盐水，作为洗涤采样管之用。新式样品盘上还装有样品号码识别装置，该装置通过计算机与打印记录器相连，将某样品测定结果打印在该样品的编号下。

2. 比例泵(称量泵)

是一种蠕动泵，执行两个功能，即提供能使样品在仪器内进行运动的压力和向流经塑料管的液体注入空气。它的作用是代替手工操作时的各种吸管。样品的用量和各种试剂的用量以及管道气泡的多少均由比例泵决定，其结构和作用原理如图 5-2 所示。

比例泵主要由弹簧、压板、塑料管和转轴组成。转轴由电机带动，几个转轴之间有链条相连。转轴沿固定轨道循环转动，反复从特制的弹性输液管道上挤压滚过，从而推动管内的液体向前滚动。比例泵的马达转速是恒定的，但配有不同内径而壁厚相同的塑料管，即可得到不同的流速，也就是说流量与管径间有一定的比例关系，故称为比例泵。对管道质量要求甚高，既要耐压和具有化学惰性，又要在压力解除后迅速恢复其原有孔径，以保持恒定的流速。从图 5-2 可以看出，当比例泵开动后，样品、第一试剂和空气被同时吸入管道并进入混合管内，第二试剂和空气也同时被吸入另一管道。空气调节棒控制空气进入管道的体积。

3. 混合管(反应器)

由玻璃螺旋管制成，如图 5-3 所示。它的作用是将比重不同的液体充分混合，以便通过保温、加温、冷却等过程完成测定反应。混合管的不同规格可根据反应时间的长短来选择。

4. 透析器

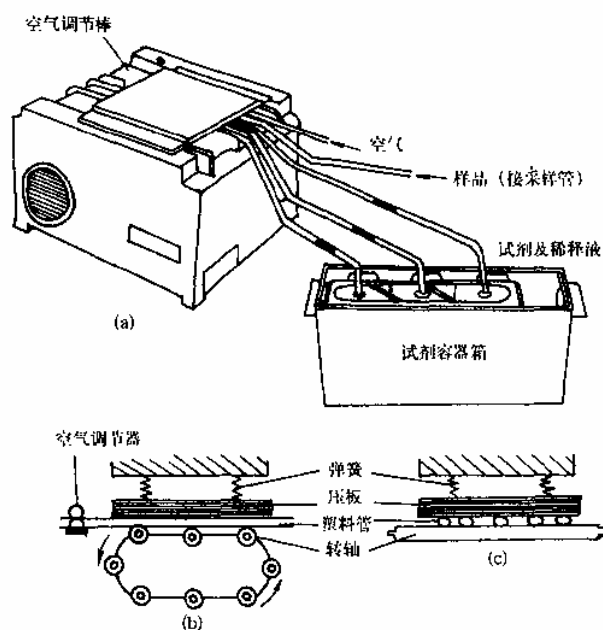


图 5-2 比例泵的结构和工作原理
(a) 一种比例泵的外形；(b) 转轴的横切面及其邻近装置的关系；
(c) 一只转轴的纵切面及其邻近装置的关系

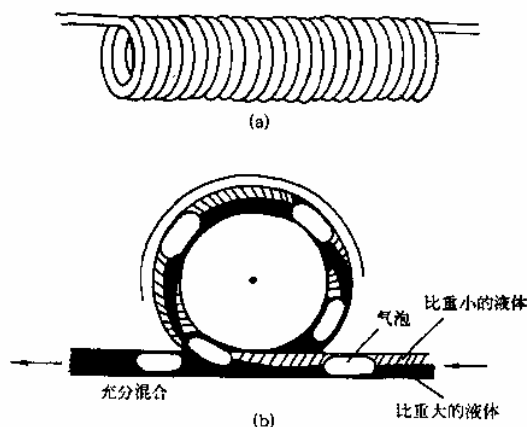


图 5-3 混合管外型及混合示意图

其作用是使反应管道中的大分子物质(如蛋白质)与小分子物质(如葡萄糖、尿素等)分离。在测定小分子物质时,常用透析器除去蛋白质造成的干扰。透析器由两块有机玻璃板组成,见图 5-4。玻璃板相对的两面刻有对称的槽,由边缘向中心呈螺旋状环绕。两块板合拢时,上下槽合成一圆形孔道,液体可从一端流入而从另一端流出。透析时,在两块板之间夹一层透析薄膜,则在膜上下各形成一个管道。图 5-4 中的样品和第一试剂从上侧管道通过,而第二试剂则从下侧管道通过。此时小分子物质透过膜进入下侧管道与第二试剂反应,而样品中的蛋白质则作为废液从上侧管道流出。透析膜有各种规格,透析率与各种物质透过程度、

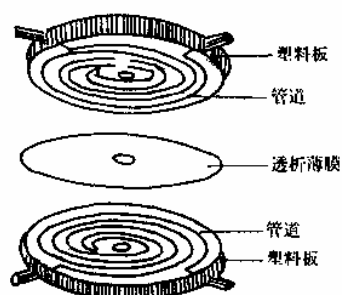


图 5-4 透析器的结构

上下槽中的渗透压差(浓度差)、透析孔径大小及反应温度有关;透析总量则与螺旋长度及透析膜有效总面积有关。为了提高透析速度和减少温度的影响,常将整个透析器浸没在 37℃ 恒温水箱内。液体在流入透析器前亦应先预热至 37℃。

图 5-1 中的恒温器和记录器就不一一介绍了。

二、分立式自动生化分析仪

所谓分立式,是指按手工操作的方式编排程序,并以有节奏的机械操作代替手工,各环节用传送带连接起来,按顺序依次操作,如图 5-5 所示。其主要部件如下。

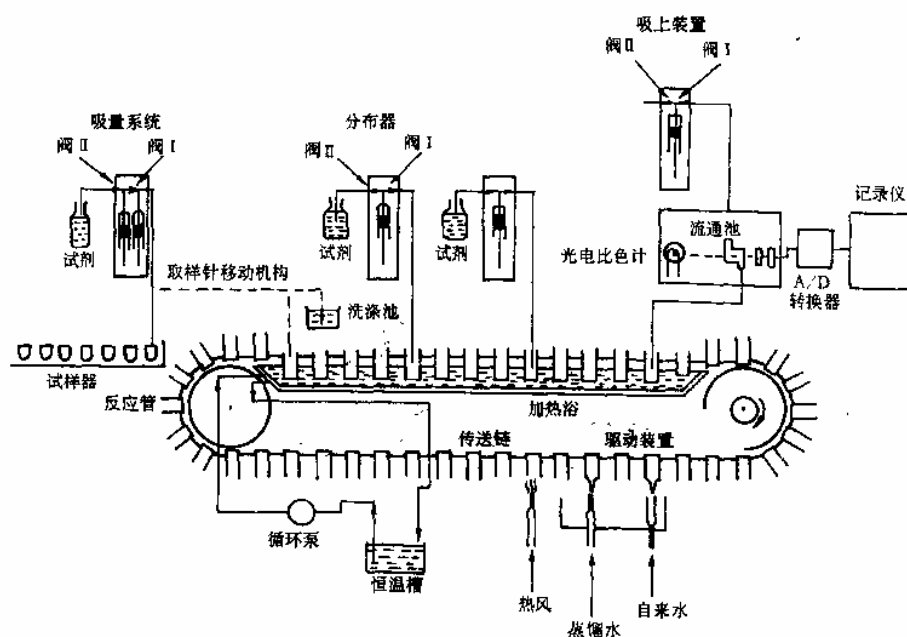


图 5-5 分立式自动分析仪

1. 试样器

为圆盘式或吊篮式。被测试样放在试样器上,试样器在驱动装置带动下,按一定速度移动,使试样一个个地传递到取样针下,待取样。

2. 吸量装置和分布器

注射器活塞通常采用气动控制机械传动装置带动,可定量吸取试样和试剂。当吸量系统的阀Ⅰ关、阀Ⅱ开时,活塞下移,两个注射器分别吸入定量试样和试剂;当阀Ⅰ开、阀Ⅱ关时,活塞上移,注射器中的试剂被推出,并将探针尖端的试样冲入反应管中。加样后,取样探针进入洗涤池,洗净探针以防交叉污染。如反应中尚需加第二、第三种试剂,则由分布器按以上原理完成。

3. 反应管

反应管固定在由微型马达带动的链式传送带上,步进式向前移动。步进速度乘以反应终点位号,即为总反应时间,可依反应时间选择适宜步进速度。

4. 加热浴

可控温于 25℃、37℃、50℃,由传送链带动反应管至恒温槽中保温。

5. 检测器

为光电比色计(或分光光度计)。待反应完成后,进行检测。吸上装置的阀Ⅰ开、阀Ⅱ关,气动活塞下移,吸上一定量被测反应液,充入比色杯,测吸光度。此时吸上装置的探针已离开反应杯,阀Ⅰ、Ⅱ仍在原位,气动控制再将反应液全部吸入注射器内。随后阀Ⅰ关、阀Ⅱ开,气动控制活塞向上,将注射器内的液体排净。如此反复,反应液便可逐个依序进入检测器,进行检测。

三、离心式自动分析仪

这类仪器型号很多,但都是根据同步分析原理设计的,它与顺序分析仪的不同处是可以同时进行若干试样与试剂的混合、反应、检测等步骤,同步完成分析,故属同步分析仪。这类仪器的优点是快速,在几分钟内可以完成 20~30 个试样中一个项目的分析,试样用量可少至 3~20 μ L,试剂量 100~250 μ L;其缺点是同一时间只能完成一个项目的分析。

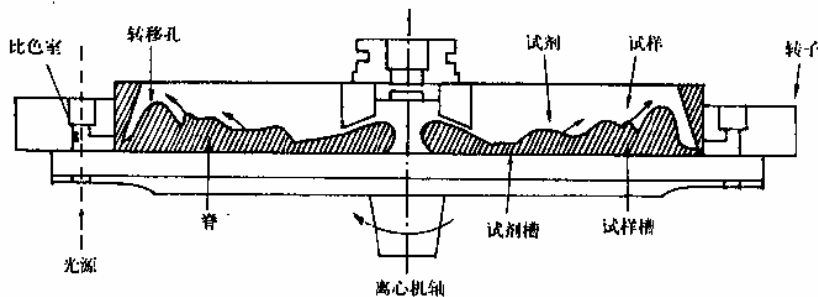


图 5-6 离心式自动分析仪

离心式分析仪由加样部分和分析部分组成,具体结构参见图 5-6。在一个圆盘的外周呈放射状排列着比色室,其上下各有石英窗,光束从上向下(或相反方向)通过比色室到达检测器。在比色室的内侧有与比色室呈对应排列的试剂槽和试样槽,槽间由隆起的脊隔开。将圆盘放到离心机上,开机后由于快速旋转所产生的离心力,使试剂、试样向外移动并混合、反应,反应物最后转移到比色室中。试样和试剂的量取是由吸量分布器完成的。分析部分则由圆盘转子、温度控制器、分光光度计、微机 and 打印机等组成。

第二节 SYNCHRON LX20 全自动生化仪

SYNCHRON LX20 是美国贝克曼公司最新推出的一台全自动、由计算机控制的临床检测仪器,可对许多药物的化学成分进行分析测定,并可对尿素或脑脊髓液等进行体外的分析测定。

在标本处理方面,采用直线型样品架,各种样品管和样品杯可混合使用,具有标准化的条码功能。最大的标本容量为 140 个,并可随时连续装载。仪器具有先进的凝块检测功能,避免因吸样量不准而导致检验结果的偏差。仪器还具有血清样本外观检测功能,可提示所检样本受溶血、脂血、黄疸影响的程度。

在检测系统方面,光源采用长寿命的闪烁式氙灯,并采用多波长检测,最多可达到 10 个波长,测试速度达 1 440 个/h。在电路部分采用了先进的智能模块。在电信号传输上,采用了光纤传导系统。

在数据管理上,采用窗口式界面,可同时以触摸屏、鼠标和键盘进行操作。有 80 多个预编程、条码识别的检测项目可供选择,并可存储 100 个用户自定义检测程序,并具有智能双向功能,可连接中文电脑系统,及时获取中文报告。

一、LX20 的基本结构

LX20 全自动生化仪器主要由系统控制台、标本处理部分、CC 试剂处理部分(门诊部分)、比色反应部分、MC 部分(急诊部分)、液气部分、注射器部分、动力部分、仪器控制模块以及软件部分等组成。

(一) 系统控制台

由计算机、触摸式监视器、键盘、鼠标和打印机组成。

(二) 标本处理部分

由样品架、样品装载部分、样品转盘部分、条形码扫描器和凝块检测装置组成。该部分用于将标本装载在系统上以作分析,并提供完成测试后的样本的临时存储。

1. 样品架(Sample Racks)

为一个高强度的,由塑料制成的离心式保持器结构,可存放 4 个标本。它有 4 种规格,每一规格有相应的样品杯及样品管。样品架上附有样架数字标号、尺寸标签及条形码标签。

2. 样品装载部分

包括:装载槽/卸载槽(Autoloader/Offload Track)、优先装载开关(Priority Load Button)、推进器(Pusher)、样品入口(Sample Gate)及气压传送装置(Shuttle)组成。

其中,装载槽/卸载槽各自可存放 25 个样架,可完成一个多小时的持续操作。

在自动装载器和样品入口间,有一优先装载位。按下优先装载开关,操纵者即可选择使用预置位,将优先样架置于系统提供的相对位置,即该样架进入样品的预置位。

推进器由启动(Run)开关控制启动,将样架推向样品入口。

样品入口在装载时,将样架从装载槽移向传送装置;卸载时,将样架从传送装置移向卸载槽。

传送装置则将样架从入口处移至样品盘。

3. 条形码扫描器(Bar Code Reader)

为一激光扫描器,用于检测样架条形码、样品条形码及样架通过时背底(Background)条形码。后者主要用于确定样品架位是空的还是占据着;若占据着,则确定样品是在杯里还是在管内。

4. 样品转盘部分(Sample Carousel)

包括:样品盘、采样针组件、搅拌器组件。

其中,样品盘由马达驱动旋转,共有 10 个样架位置,其中 8 个作常规门诊,2 个预留作急诊。

采样针组件由采样针、针头清洗装置及液面检测器组成。整个组件运动由支杆带动,该支杆由马达控制,可作旋转和垂直运动。针头清洗装置用于对采样针内、外表面进行清洗。液面检测器采用一个基于射频检测原理的液面检测线路来确定探针的伸入量。

搅拌器组件由搅拌针和清洗杯组成。搅拌针由一支杆带动,可作旋转和垂直运动。当搅拌针在清洗杯内作上下移动时,即被杯内清洗液喷洒清洗干净。

(三) CC 试剂处理部分

由试剂盒(附条形码)、试剂盘、试剂条形码扫描器及试剂采样针组件组成。该部分用于将试剂从各自试剂盒中取出,传送到反应杯里,进行相关的处理和分析。

试剂盒是一种专用的塑料容器,被装入回转式的试剂盘储存区内。试剂盘可存放 30 个试剂盒。试剂盘部分要冷藏和风扇散热,温度保持在 5℃左右。试剂采样针组件包括两个由机械装置支撑的可动支杆、两个采样针及相应的清洗装置和一个试剂搅拌器。两个试剂采样针串联式工作,即当一个将试剂送入比色杯,另一个则从试剂盒中吸入试剂,以备送至下一个比色杯。它们相应的功能与样品采样针组件相同。

(四) 比色反应部分

由反应转盘、光度计和比色杯清洗塔组成。

1. 反应转盘

可存放 125 个比色杯。比色杯为玻璃材质,光径 0.5 cm,高约 30 mm(方形),为非随弃式。转盘由马达控制,可作旋转运动。在 8 秒钟的分析周期中,它以每分钟 78 转作逆时针旋转,在此期间,比色杯通过光读数装置两次。该转盘通过变相加热管将温度控制在 37℃左右。

2. 光度计

由脉冲灯、分立式 10 位硅二极管检测器阵列、单色器支座及相关电子线路组成。

当比色杯在旋转中通过光度计时,脉冲灯发光,其合成光通过比色杯,然后光束射到光栅上被分解为全光谱。光度计配有下列这些波长的光检测器:340nm,380nm,410nm,470nm,520nm,560nm,600nm,650nm,670nm 和 700nm。当光线射到光检测器上,便产生电模拟信号,然后通过 ADC 控制线路转成数字信号。

3. 比色杯清洗塔

由 4 个清洗探针、一个升降装置及相应管路组成。

清洗过程中,探针的上下运动通过马达控制升降装置来实现。

从液压气动装置传递过来的压缩空气和真空,通过 4 个同轴探针,吸入和排出适当液体来清洗比色杯。整个清洗过程包括 4 个独立部分,各由一个探针完成。4 个比色杯可同时进

行清洗。当一个比色杯通过 4 个不同的探针后,即完成了清洗。

比色杯清洗后,先进行试剂添加、混合,再进行样品添加、混合。

各探针的作用如下。

探针 1: 从比色杯中吸出反应物(样品与试剂),送到废液部分。待反应物吸出后,将清洗液注入比色杯。

探针 2: 吸出杯内的清洗液,排到废液部分。再次注入清洗液。

探针 3: 吸出杯内的清洗液,排到废液部分。然后注入去离子水。

探针 4: 配有一特制的方形滑动喷嘴口,紧配比色杯尺寸,用于去除去离子水和任何附在内壁上的残留液。

(五) MC 部分

该部分包括: 试剂贮存区、比例泵、MC 采样针组件、电解液注射杯(EIC)、反应池(Flow cell)和 6 个化学反应模块。

1. 试剂贮存区

位于仪器左前门。有一手持条形码扫描器,可将试剂名称、批号及试剂量自动进入试剂装载屏。

2. 比例泵

由电机驱动,为一多汽缸的正位移泵,将所需试剂送至离子选择电极(ISE)反应池。

3. MC 采样针组件

其原理同前面所述采样针一样。此处略述。

4. 电解质注射杯(EIC)

EIC 在样品被送到反应池前,先将其与缓冲液混合。它有 3 个进口,分别为去离子水入口、参比试剂添加入口和缓冲液添加入口;有两个出口,分别为稀释样品到反应池的出口和废液从电解质注射杯的排出口。

5. 反应池

有 7 个电极,分别用于对 Na^+ , K^+ , Cl^- , CO_2 , Ca^{2+} 进行分析。其中,两个为参比电极,一个对 CO_2 检测,另一个则对其余电解质进行检测。

反应池面板上有两个入口,下面一个为参比电极所用的电解质参比液进口,上面一个为酸试剂进口。有两个出口,反应池顶部的后出口为电解质参比液分析后的排出口,而另一出口为被稀释的经过酸处理过的样品出口。

6. 六个化学反应模块

这些模块均由微处理器控制装置与检测系统、基本反应杯装置、搅拌器组件及试剂输送泵等组成。其中,对白蛋白(ALBm)、肌酸酐(CREm)、磷(PHOSm)和全蛋白(TP)采用光检测原理,而对尿素氮(BUNm)、葡萄糖(GLUCm)则采用电检测原理。

(六) 液气部分

由真空系统、清洗系统、去离子水系统、空气压缩系统和排废通道等组成。其功能为将真空、压缩空气、稀释清洗液和去离子水等供给仪器的不同部分。

(七) 注射器系统

由 MC 样品注射器装置、CC 样品注射器装置和 CC 试剂注射器装置组成,用于在运行中对样品和 CC 部分试剂提供吸液和排液功能。其中,MC 样品注射器装置为 $100\mu\text{l}$,将样品

注入反应杯和离子选择电极反应池。CC 样品注射器装置为 100 μ l, 将样品注入 CC 部分。CC 试剂注射器装置为 500 μ l, 用于对 CC 部分试剂的吸取和排放。注射器的上下运动由步进电机控制, 每一电机步长对应于一个精确的吸放量。

(八) 动力系统

由 220V、50/60Hz、单相、20A 的交流电供电。

二、工作原理

LX20 包括 CC 和 MC 两大部分。CC 部分采用比色分析法, 可同时采用速率法、终点法和多点法等进行定量分析; MC 部分包括了 7 个化学模块, 分别为离子选择电极 (ISE) 反应池模块、尿素氮测定模块、磷测定模块、肌酸酐测定模块、白蛋白测定模块、全蛋白测定模块和葡萄糖测定模块等。其中, 离子选择电极反应池使用离子选择电极方法和 pH 电极法 (测 CO_2); 尿素氮测定模块采用传导电极法; 磷测定模块、肌酸酐测定模块和白蛋白测定模块采用比色法; 葡萄糖测定模块则采用氧传感器法。

(一) CC 部分的样品和试剂处理

分析旋转周期为 8 秒, 包括 3 秒旋转相和 5 秒静止相。在 8 秒周期内, 转盘转 2 圈半, 每个比色杯转 2 圈半加逆时针前移一格。在旋转相内, 比色杯经由光站, 其中激活的 (选定的) 比色杯被测定吸光度值, 并进行多色修正, 最多可记录对应 10 个不同波长的吸光度值。在静止相内, 完成 3 个动作, 即清洗比色杯, 试剂添加和搅拌, 样品添加和搅拌。单个比色杯转过一周需 20 分钟左右, 依次经过试剂和样品添加站、反应段及清洗站。

图 5-7 为 LX20 CC 部分的时相图。

(二) MC 部分的样品和试剂处理

MC 部分的取样、控制和校验与 CC 部分处理方式不同。样品处理包括两个独立的周期: 第一周期, 样品先送至尿素氮组件, 再送至电解质注射杯 (EIC); 第二周期内, 样品依次送至磷测定模块、葡萄糖测定模块、肌酸酐测定模块、全蛋白测定模块和白蛋白测定模块。

1. 电解质模块中样品和试剂的流程

周期为 40 秒, 最多可通过 90 个样品, 每小时可作 990 个测试分析。其具体流程为:

A) 样品转盘将指定样架转至吸入位置。

B) 样品探针转至样品转盘比色杯位, 吸入 3 μ l 空气柱。

C) 样品探针下落到样品内, 直到液面检测器检测到样品表面, 吸取 5 μ l 样品作清洗用。

D) 样品探针吸入一定量样品 (12 μ l)。若测尿素氮, 10 μ l 用于测试, 2 μ l 作清洗用; 若不测尿素氮, 则 12 μ l 均用作清洗。

E) 探针上升, 液面检测器重新设置。

F) 探针第二次下落至吸入点。液面检测器被激活。

G) 样品吸好后, 探针排出一定样品, 探针外表面被抽吸干。

H) 探针从样品中缩回, 旋至电解质注射杯。

I) 探针下落, 在电解质注射杯内作一封口。蠕动泵开始向 CO_2 电极供给碱性缓冲液。

J) 电解质缓冲液然后送给电解质注射杯, 与 62 μ l 样品混合。

K) 样品与缓冲液以 1:20 比例稀释后, 被送到反应池进行测定 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 等, 然后与酸试剂进行稀释, 测定 CO_2 。

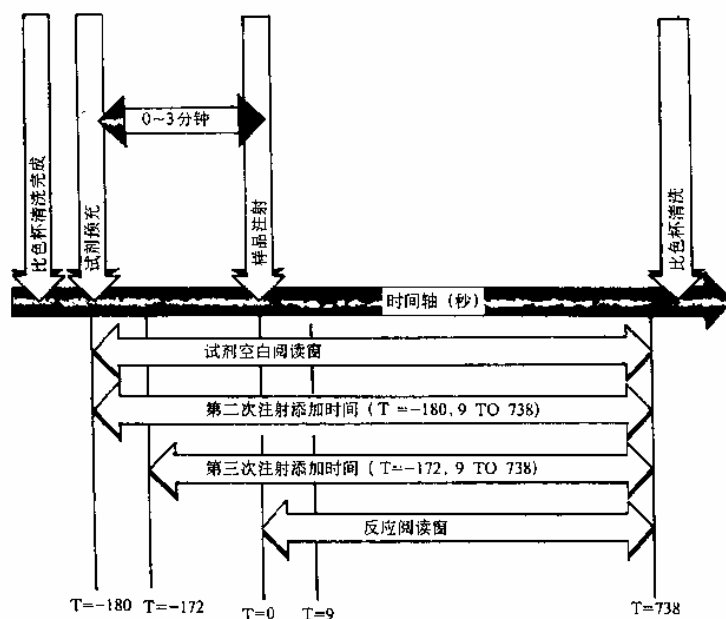


图 5-7 LX20 CC 部分时相图

L) 在向 CO_2 电极输送了约 2ml 的试剂后,关闭碱性缓冲液蠕动泵。

M) 当探针外表面被清洗时,液路系统供水给电解质注射杯。

N) 蠕动泵被启动,输送缓冲液到 CO_2 参比电极。电解质参比液和 CO_2 酸试剂被抽入比例泵。

O) 电解质参比液被送到反应池和被测定的钠参比电极。参比液的测量用来补偿温度和系统漂移。

P) 电解质样品注射后,反应池的电池阀关闭,样品支杆上移。电解质注射杯充满水。样品注射泵上移,推出一小部分样品进入清洗杯。

图 5-8 为离子选择电极反应池流程图。

2. 反应杯模块试剂流程

A) 搅拌棒旋转,排放阀打开,反应杯通过液压真空泵排空水和试剂。排放阀关闭,搅拌棒停止旋转。

B) 注入阀打开,泵送适量试剂至反应杯。注入阀关闭,搅拌棒旋转。

当完成样品添加,开始反应时,系统回到 A 阶段。

3. 反应杯模块样品处理

其流程与上述电解质模块大致相同,这里不再复述。

图 5-9 为 MC 反应杯管路图。

(三) CC 部分的测量原理

采用分光光度法,即当样品(或定标物等)与一种或多种特定的化学试剂混合,会产生一种具有吸收特定波长光的能力的物质,该物质称为色基(Chromophore)。根据比尔定律,被色基所吸收的光量与待测物的浓度成正比。LX20 采用了终点法和速率法等测量方法。

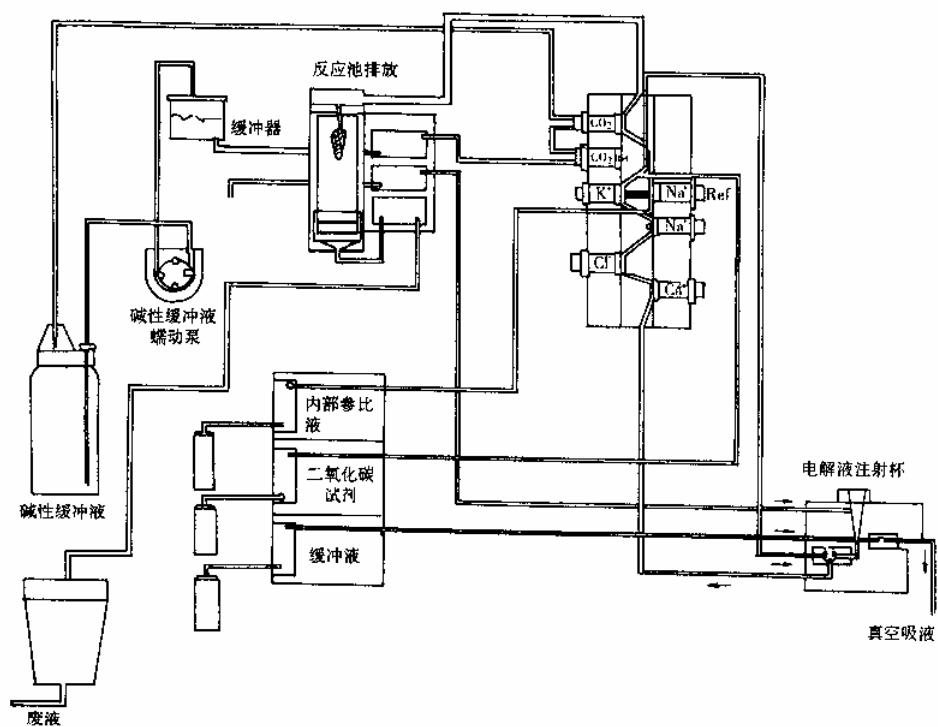


图 5-8 离子选择电极反应池流程图

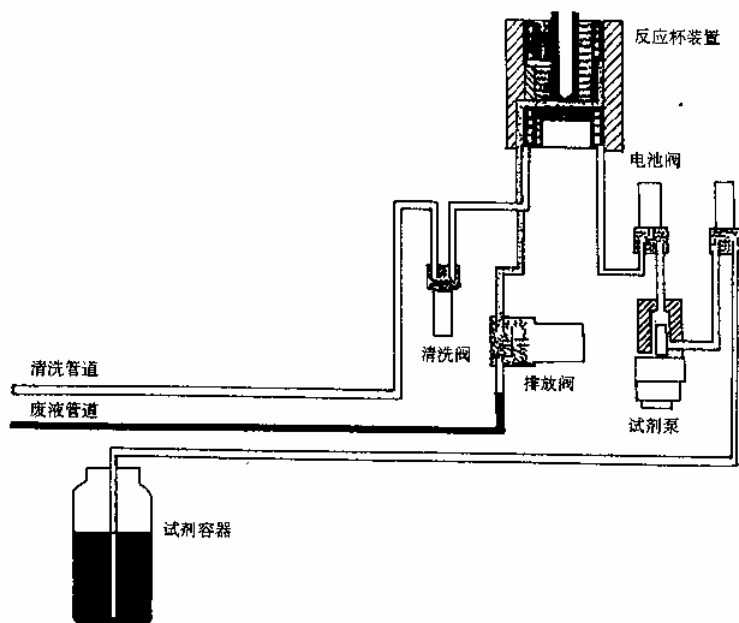


图 5-9 MC 反应杯管路图

1. 终点法测量

图 5-10 为一典型的终点法反应曲线,图中纵坐标为吸光度值,横坐标为时间(单位为 min)。在终点法反应中,首先测定样品添加前比色皿中的基准吸光度值(即试剂空白),然后测定当样品添加到达了一个标志反应完成的稳定平台后的吸光度值,其差值用于浓度的最后计算。

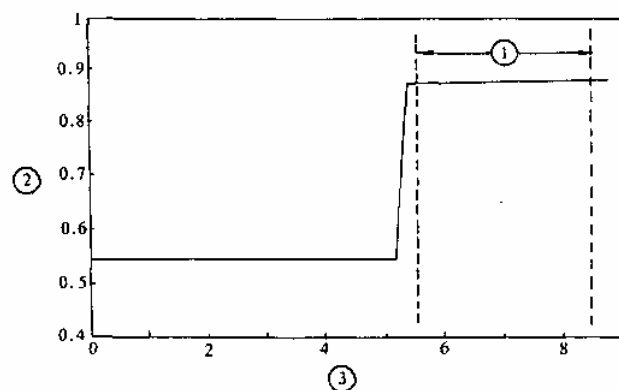


图 5-10 典型的终点法反应曲线

2. 速率法测量

图 5-11 为一典型的速率法反应曲线,图中纵坐标为吸光度值,横坐标为时间(单位为 min)。在反应过程中,在特定时间间隔记录下一系列测量值。在一定时间内,连续测量间吸光度值的变化率为待测物浓度的函数。

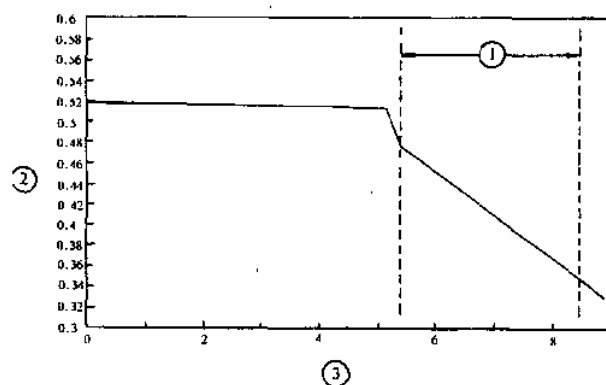


图 5-11 典型的速率法反应曲线

3. 光路部分

图 5-12 为 CC 部分的光路示意图。在旋转相内,当比色杯通过光站,氙灯同步发出闪光,具体过程为:

A) 光源灯射出的光通过一光孔,投射到位于透镜焦点处的曲面镜,再经比色杯,直至单色仪的入口光阑处。

B) 经过入口光阑后,光遇一物镜(图中透镜),其与下方球面镜(图中第一准直仪镜)组合,使光孔成像在光栅上,以控制散射光。球面镜也将光线导向衍射光栅上,将其分解为连

续波长的光束。

C) 这些波长的光以不同角度离开光栅,射至第二个球面镜(图中第二准直仪镜),在通过一滤光器后,聚焦在出口光栅处。

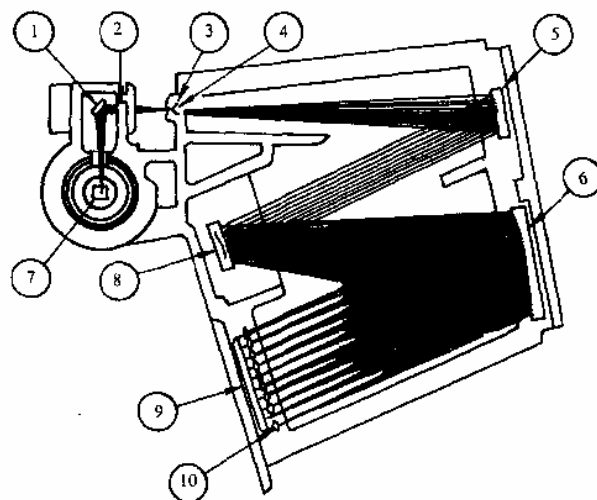


图 5-12 CC 部分光路示意图

1. 曲面镜;2. 比色杯(光径 5mm);3. 透镜;4. 光阑;5. 第一准直仪镜;6. 第二准直仪镜;7. 闪烁光源灯;8. 光栅;9. 聚焦平面;10. 序列分选过滤器

D) 光由一硅光电管阵列检测。独立的检测器的测定波长为:340nm、380nm、410nm、470nm、520nm、560nm、600nm、650nm、670nm 和 700nm。

4. 电子信号处理系统

由信号控制器、多路扫描器、AD 转换器和 CPU 组成。各部分功能如下:

信号控制器的 10 个光检测器通道各有一个独立的信号控制线路,包括一个预置放大器,主要用于提高从光检测器和样品出来的低压信号;还包括一条稳定线路用来为多路扫描器提供信号。

多路扫描器用于接收来自信号控制线路的信号,通过缓冲器将其分别送到两个放大器。放大器名义增益为 1 和 8。被放大的信号被送至 AD 转换器。

AD 转换器则将各种模拟信号转换为数字信号,然后通过 CPU 计算出最后结果。

CPU 用于协调 AD 转换器与多路扫描器间的关系。当某一模拟信号待转换时,向 AD 转换器发出信号。多色校正的吸光度数值也被收集,并用于计算最终结果,再送到控制台。

5. 结果计算

某反应物最终浓度值是通过给定比色杯记录下的反应数据计算求得的。反应数据基于定标物的定标系数或非定标物的计算系数。CC 测试结果概括为下列几个步骤:

A) 常规操作中,在反应旋转相时,当比色杯经过光站时,可获取 10 个不同波长的吸光度读数。在一个旋转相中,每个比色杯经过光站两次。

B) 每个旋转相的两个数据点被存储。偏离回归线太大的数据点通过检测被标示出。若某一数据点被发现超出预定极限,则被储存为错误代码数据,随之产生警示信息。

C) 合成数据点用于计算最终浓度值。

对于终点法,浓度值是通过计算反应读数期内获得的平均吸光度值来确定,即

$$\text{平均吸光度值} \times \text{定标系数} + \text{定标偏移} = \text{最终浓度值}$$

对于速率法, $\text{斜率} \times \text{定标系数} + \text{定标偏移} = \text{最终浓度值}$ 。

(四) MC 部分的测量原理

MC 部分包括 7 个模块,其中钠、钾、氯、钙等离子和二氧化碳的测定采用各自的离子选择电极反应池进行;尿素氮、磷、肌酸酐、葡萄糖、白蛋白和全蛋白的测定则通过各自独立的反应杯模块完成。

有关离子选择电极的内容在前面第四章已详尽叙述,这里不再重复。下面就各反应杯模块的基本测定方法作一简述。

1. 白蛋白测定(ALBm)方法

在含有溴甲酚紫(BCP)试剂的反应杯里注入一定量的样品,样品与试剂的比例为 1:114。血样中的白蛋白与试剂结合,形成一个溴甲酚紫白蛋白复合物。该系统利用比色原理,以终点法在 600nm 光波处检测其吸光度变化,该变化值与血样中白蛋白的浓度成正比。

标本类型为:血清/血浆。

2. 尿素氮测定(BUNm)方法

在含有尿素酶溶液的反应杯内注入一定量的样品,样品与试剂的比例为 1:76。两者发生反应,将非离子型样品(尿)转换成离子化物质。系统利用传导原理,以定时速率法测定溶液导电率增长率,该值与反应杯中存在的尿素(氮)的浓度成正比。

标本类型为:血清/血浆/尿液。

3. 肌酸酐测定(CREm)方法

在含有碱性苦味酸盐溶液的反应杯里注入一定量的样品,血清与试剂的比例为 1:35,尿素与血清的比例为 1:105。样品中的肌酸酐与试剂结合产生一红色复合物。系统利用比色原理,在标本注入后 19~25s 时间段内,测定在 520nm 光波处的吸光度值变化率,该值与样品中肌酸酐的浓度值成正比。

标本类型为:血清/尿液。

4. 葡萄糖测定(GLUCm)方法

在含有葡萄糖氧化酶溶液的反应杯里注入一定量的样品,样品与试剂的比例为 1:76。系统利用氧耗原理,采用氧电极测定氧耗量的峰值率,该值与标本中的葡萄糖浓度成正比。

标本类型为:血清/血浆/尿液/CSF(脑脊髓液)。

5. 磷测定(PHOSm)方法

在含有钼酸盐溶液的反应杯里注入一定量的样品,样品与试剂的比例为 1:72。无机磷与酸性溶液中的钼酸盐反应,产生一黄色的磷钼酸盐复合物。系统利用比色原理,在样品注入后 19~25s 时间段内,检测在 365nm 光波处黄色磷钼酸盐的吸光度值变化率,该值与样品中无机磷的浓度成正比。

标本类型为:血清/血浆/尿液。

6. 全蛋白测定(TPm)方法

在含有碱性铜试剂的反应杯内注入一定量的样品,血清与试剂的比例为 1:79,脑脊髓液(CSF)与试剂的比例为 1:11。样品中的蛋白质与试剂结合,产生一碱性铜蛋白质螯合物

(呈深蓝色)。系统利用比色原理,检测在 545nm 光波处其吸光度的变化率,该值与样品中的全蛋白浓度成正比。

标本类型为:血清/血浆/尿液。

第三节 日立 7170(A)全自动生化仪

7170(A)是日本日立公司推出的一台多功能的大型生化分析仪,它具有同时进行最多 86 种项目的分析能力,可实现每小时 800 次测试的高效率分析。反应时间可在 3~22 分钟内任意选择。仪器采用触摸式荧光屏技术,操作十分简单直观。下面就其基本结构和工作原理作一简介。

一、7170(A)的基本结构及其功能

7170 型全自动生化分析仪主要由样品盘、吸样机构、试剂盘、试剂吸量机构、反应盘、反应槽、搅拌机构、清洗机构、试剂冷藏装置、光度计、操作系统及附属装置等组成。下面就各部件的基本结构及其功能作一简述。

1. 样品盘(Sample Disk)

共有两个样品盘,均为内、外圈圆盘状结构,用于存放样品杯。其中样品盘 1 内、外圈各有 55 个杯架,放置常规和急查测试样品;样品盘 2 内圈有 25 个杯架,外圈有 35 个杯架,用于放置标准液、质控样品和清洗剂等。

2. 吸样机构(Sample Mechanism)

由样品吸量管、样品探针(带有液面检测器)和针头清洗槽等组成,用于从样品杯中吸取一定量的样品,然后注入反应杯内。样品探针重复上下运动,并依次在样品杯、反应杯、针头清洗槽之间往复移动。

为防止交叉感染,将脱气水吸到样品探针的前端为止。吸样品时,先在脱气水与样品间吸入空气,再吸入比设定的样品量多些的量,然后回吐出设定的样品量。在连续分析同一样品时,自第二次起,只吸入设定的样品量。

图 5-13 为吸样机构流程图。

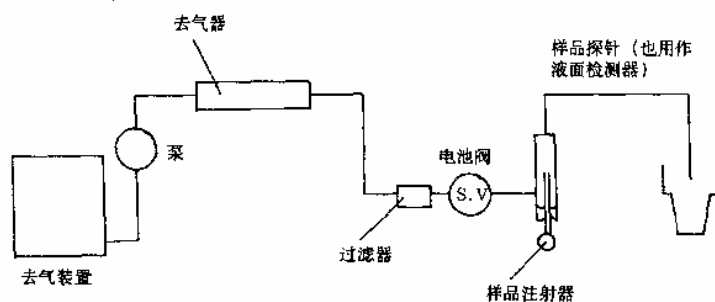


图 5-13 吸样机构流程图

3. 试剂盘(Reagent Disk)

共有两个试剂盘,各有 45 个试剂瓶。用于放置四种试剂。

4. 试剂吸量机构(Reagent Pipetting Mechanism)

由试剂吸量管、试剂探针(包括一液面检测器)及针头清洗槽等组成,用于从各试剂瓶中吸取一定量的试剂,然后注入反应杯内。其工作原理与吸样机构基本相同。

5. 反应盘(Reaction Disk)

可放置 160 个比色杯(20 个/组×8 组)。比色杯为塑料材质,光径长 5mm。

6. 反应槽(Incubator)

其维持反应杯内的反应液在一特定温度($37^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$)。

7. 搅拌机构(Stirring Mechanism)

包括两个搅拌棒和两个清洗塔。在各反应杯添加完试剂后,对其进行搅拌。

8. 清洗机构(Rinsing Mechanism)

包括两个清洗装置,用于清除测定完毕后的反应液、清洗反应杯、注入及清除测水空白时用的去离子水。

9. 试剂冷藏装置(Reagent Cooling Unit)

用于放置试剂盘和冷藏试剂,温度保持在 $5\sim 15^{\circ}\text{C}$ 。同时扫描各试剂瓶的标签。

10. 光度计(Photometer)

图 5-14 为光度计的光路原理图。在反应盘旋转时,测定每个反应杯内去离子水(水空白测试)或反应液的吸光度值。其光源为 12V、20W 的卤素灯。使用凹面光栅,采用分光光度法。检测器采用 12 个固定波长,在 $340\sim 800\text{nm}$ 之间。

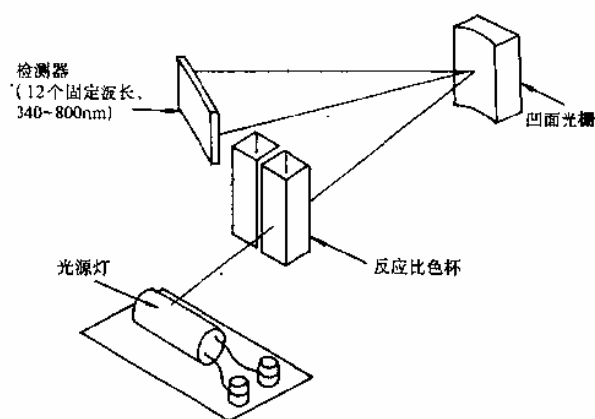


图 5-14 光度计原理

11. 操作系统(Operating Unit)

由触摸式显示器、打印机、键盘和主机等组成,用于输入信息以及显示、打印分析结果。

12. 附属装置(Optional Units)

包括测定钠、钾和氯的 ISE 装置和样品 ID 附件。

二、工作原理

图 5-15 为该仪器的工作原理图。

1. 机械部分的工作原理

1) 7170 型的机械部分由样品盘、吸样机构、试剂盘、试剂吸量机构、反应盘、反应槽(图中未注)、搅拌机构、清洗机构、光度计等组成。

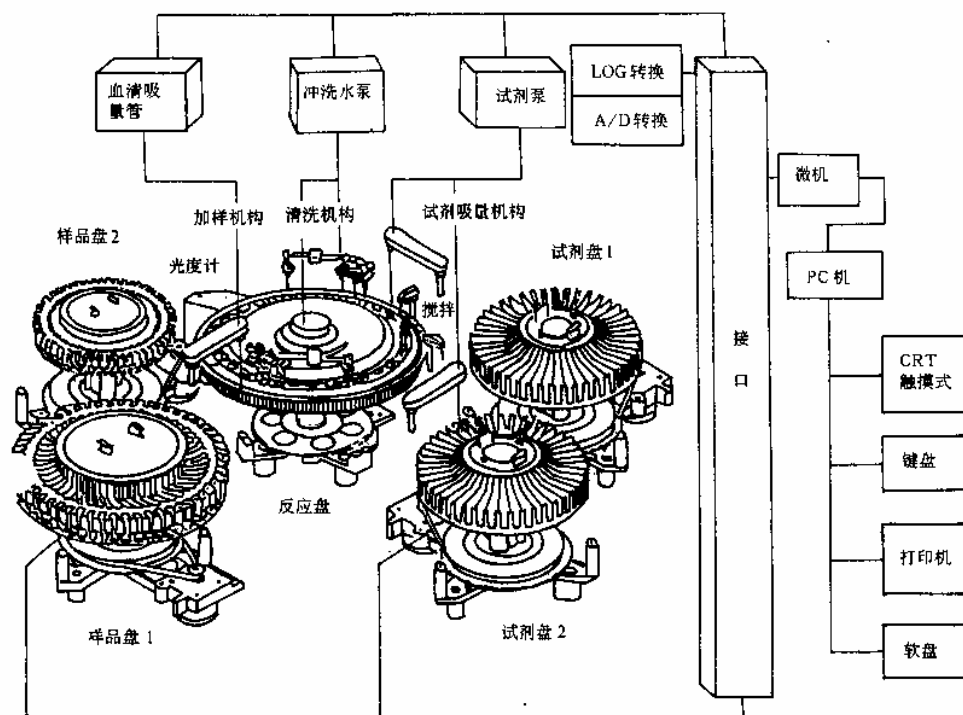


图 5-15 7170 工作原理

2) 将盛有样品的样品杯分别放在各自的样品盘中,将试剂放入试剂盘中,用键盘或触摸屏输入各个样品的分析项目,进行登记。

3) 分析一开始,清洗机构先从一号反应杯开始清洗。反应盘先转 37 个杯子位置停一下,然后再转 4 个杯子位置,再停一下。同样动作重复 4 次,反应盘合计转动一圈(160 个杯子)零 4 个杯子的距离,这叫一个循环。清洗工作继续进行,在杯子通过测光部时测定水空白值,此值即为吸光度值的基准值。测定后,清洗机构的吸嘴吸去反应杯内的去离子水。

4) 反应杯被送到样品注入的位置处。样品盘旋转,将样品杯送到吸样位置。试剂盘也同样旋转到吸量位置上。然后,吸样机构开始动作,样品探针移向样品杯,再下降。由于样品探针带有液面检测器,因此针头伸入到样品中即停止下降,通过样品吸量机构吸取已设定的样品量。然后,样品探针移向反应杯,针尖伸向反应杯底,将样品吐出。然后,样品探针再向洗针槽移动,用去离子水清洗针的内外壁。若下次吸取的是同一样品,即省去清洗针的动作。

5) 反应杯被注入样品后进行旋转,试剂吸量机构同时吸取试剂 1。在反应盘旋转暂停时,试剂吸量机构将试剂 1 注入反应杯。接着反应盘转 4 个杯子距离再暂停。此时,搅拌棒对样品和试剂进行搅拌混合。试剂吸量机构吸、吐试剂的动作顺序为:首先试剂吸量机构旋转到指定项目的试剂瓶上方,然后下降。由于试剂探针带有液面检测器,因此,当针头一接触试剂液面先停止下降,然后再下移吸入设定量的试剂。接着,试剂针 1 上移至反应杯上,开始清洗针的内外壁。

6) 当加入试剂 1 后,开始测光。测光是在反应盘旋转时,反应杯横断光路时进行的。

7) 反应杯从样品注入位置开始转动 5 个循环,停一下,再转 37 个杯子距离,到达试剂 2

的添加位置,由试剂探针向反应杯内添加试剂 2。接着,反应盘再转 4 个杯子的距离,然后暂停,由搅拌机构进行样品和试剂 2 的搅拌。

8) 反应杯从样品注入位置开始转 15 循环+160 个杯子的距离,暂停时,由试剂探针加入试剂 3。接着,反应盘转 4 个杯子的距离,停止时,由搅拌机构进行样品和试剂 3 的搅拌。

9) 反应杯从样品注入位置开始转 32 圈+119 个杯子的距离,停止时,由试剂探针向反应杯内加入试剂 4。接着,反应盘转 4 个杯子的距离,停止时,由搅拌机构对样品和试剂 4 进行搅拌。

10) 约经过 10 分钟,清洗机构的吸嘴将反应杯内的反应液吸出,排到仪器内的废液箱内。然后,在空的反应杯内注入清洗剂开始进入下一个清洗流程。清洗后,测定水空白值,反应杯待下一次分析时使用。

每个样品测定完成后,可随时打印测定结果。

2. 工作流程

图 5-16 为该仪器的分析流程图。

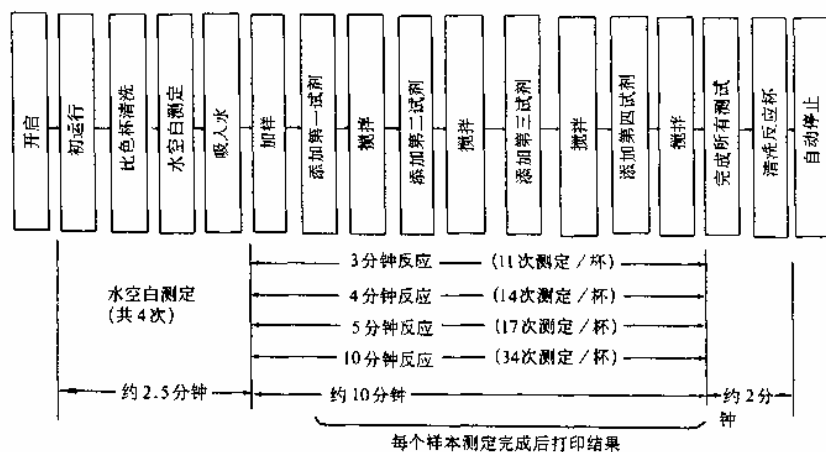


图 5-16 分析流程图

3. 测光特点

其主要具有以下两个特点:

1) 反应过程的测光方式

在 3~10 分钟的反应时间内,不断地间隔一定时间测定一次反应液的吸光度。例如,在 10min 内测 34 次吸光度,测出的各个吸光度的顺序叫做测光点。反应盘约 18s 转动 1 圈+4 个杯子的距离。在此其间,所有 160 个杯子在横切光度计光路时的吸光度均被测试出来。

图 5-17 为测光点、试剂添加时相和搅拌时相的示意图。

2) 多波长光度计

如图 5-14 所示,透镜(图中未注)聚焦来自光源的白色光,让其先通过反应比色杯,然后采用凹面光栅分光的后分光方式,分光后的各波长由 12 个固定的检测器同时接收,而对其中 2 个波长(λ_1 、 λ_2)的信号用 2 台放大器放大,并分别进行 Log 转换,求出吸光度差,即仪器采用双波长测光方式。

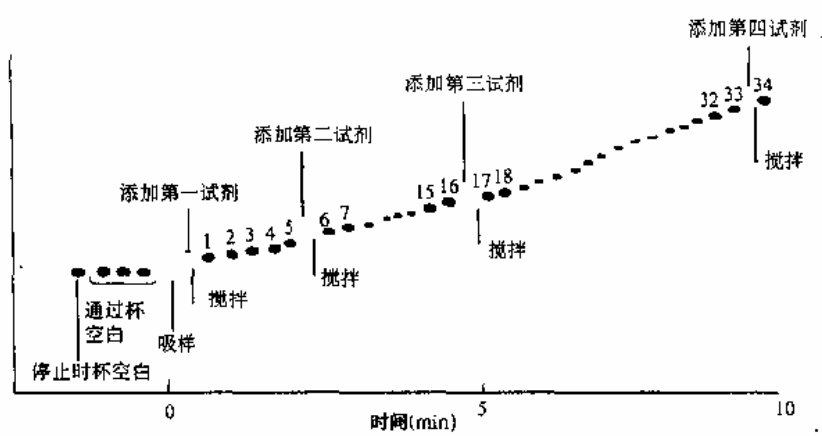


图 5-17 时相示意图

自动生化分析仪(auto analyzer)是一种把生化分析中的取样、加试剂、去干扰、混合、恒温、反应、检测、结果处理以及清洗等过程中的部分或全部步骤进行自动化操作的仪器。它完全模仿并代替了手工操作,已成为大中型实验室不可缺少的仪器,使临床生化检验中的主要操作实现了机械化、自动化。

自动生化分析仪的出现始于 20 世纪 50 年代,1957 年 Seggs 首次介绍的是一种单通道、连续流动式自动生化分析仪。1964 年,推出了一台可同时测定多项目的连续流动式自动生化分析仪。70 年代中期,电子计算机控制的自动生化分析仪使自动生化分析仪进入了一个崭新的发展时期。进入 80 年代以来,新型分析仪不断涌现,特别是 90 年代,各型自动生化分析仪竞相发展,功能及性能指标日趋完善。它们的共同特点是具有先进的光路系统(后分光、双光路、点光源)和强大的数据处理功能。实现了检测技术多样化,如生物模块测试技术(免保养的电极模块),无交叉污染的超声波混匀技术和一次性反应杯等,使检测速度大大提高。自动生化分析仪的应用大大提高了生化检验的准确性、精密度和工作效率,适应了临床医学发展对检验医学的要求。随意连续高速度,组合化,超微量化,智能化和尖端化是自动生化分析仪的发展趋势。

第一节 基本结构和原理

自动生化分析仪的结构分为分析部分和操作部分,二者可分为两个独立的单元,也可组合为一体机。分析部分主要由检测系统、样品和试剂处理系统、反应系统和清洗系统等组成;操作部分就是计算机系统,贮存所有的系统软件,控制仪器的运行和操作以及进行复杂的数据处理。

一、检测系统

检测系统(光度计)由光学系统和信号检测系统组成,是分析部分的核心,它的功能是将化学反应的光学变化转变成电信号。

(一)光学系统

光学系统由光源、光路系统、分光器等组成。它们的作用是提供足够强度的光束、单色光及比色的光路。

1. 光源 自动生化分析仪的光源一般采用卤素灯,多为 12W20V;提供波长范围为 340~800nm 的光源,寿命为 800h 左右。

2. 光路系统 光路系统包括从发出光源到信号接收的全部路径,由一组透镜、聚光镜、光径(比色杯)和分光元件等组成。有直射式光路和集束式光路系统及前分光和后分光之分。前分光的光路与一般分光光度计相同,即光源→分光元件→样品→检测器,如图 5-16-1 所示。后分光的光路是光源→样品→分光元件→检测器,将一束白光(混合光)先

照射到样品杯,然后通过光栅分光,再用检测器检测任何一个波长的吸光度,见图 5-16-2。后分光的优点是不需移动仪器的任何部件,可同时选用双波长或多波长进行测定,降低了噪声,提高了分析的精度和准确度,减少了故障率。目前的全自动生化分析仪多采用后分光,半自动生化分析仪也有少数采用后分光原理。

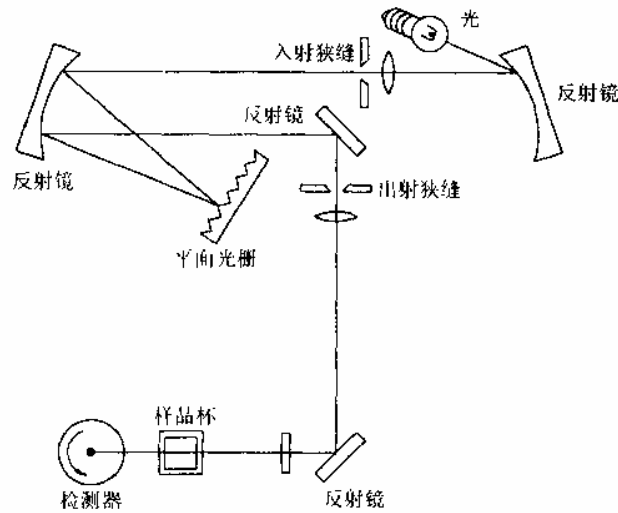


图 5-16-1 前分光光路示意图

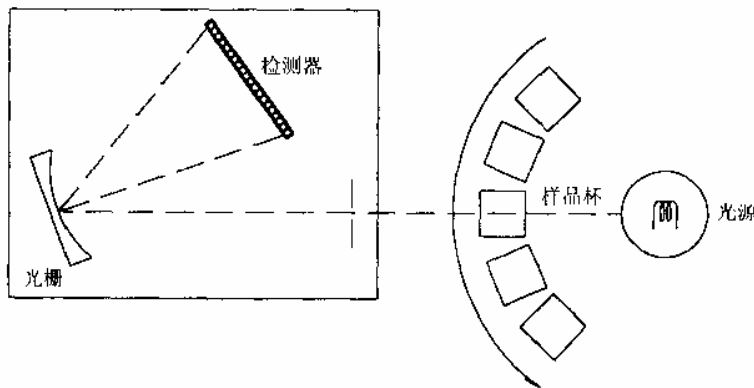


图 5-16-2 后分光光路示意图

直射式光路由于光束较宽,难于减少所测试反应液的体积。集束式光路则是通过一个透镜使光束变窄,可检测低至 $180\mu\text{l}$ 的反应混合体,使生化分析仪的超微量检测成为可能,见图 5-16-3。近来又出现了点光源技术,它的光束更小,照射到样品杯时仅为一个点,可使反应液的量降至 $120\mu\text{l}$ 。

3. 分光元件 分光元件有滤片、全息反射式光栅和蚀刻式凹面光栅三种形式,均为紫外-可见光。全息反射式光栅是在玻璃上覆盖一层金属膜后制成,有一定程度的相差,

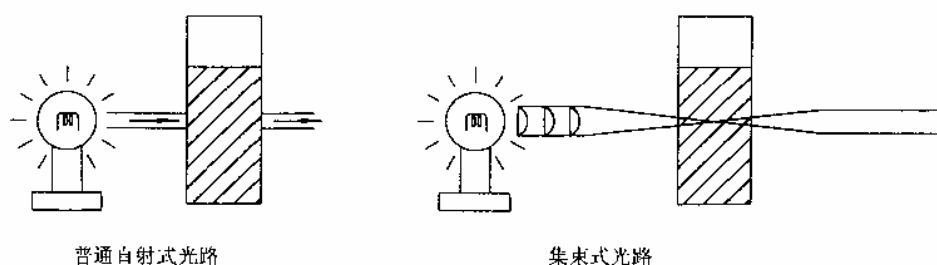


图 5-16-3 直射式和集束式光路示意图

且易被腐蚀；蚀刻式光栅是将所选波长固定地刻制在凹面玻璃上(1mm 内可以蚀刻 4000~10000 条线)，有耐磨损、抗腐蚀、无相差等优点。滤光片均为干涉滤光片，有插入式和可旋转式滤光片槽、滤光片盘两种。插入式是将要用的滤光片插入滤片槽中；滤光片盘是将仪器配备的滤光片都安装在此盘中，使用时旋转至所需滤光片处即可。滤光片多用在半自动生化分析仪中。

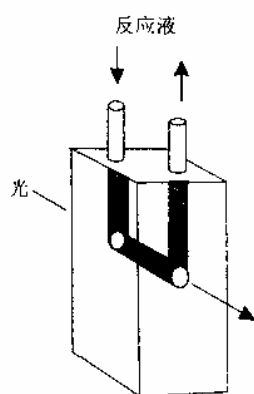


图 5-16-4 流动比色池

4. 光径比色部分 光径是指比色杯的厚度，比色杯的厚度有 1cm、0.6cm 和 0.5cm 三种。光径小的可以节省试剂，减少样品用量，是目前的流行式。光径小于 1cm 时，仪器能自动校正为 1cm。其比色方式有二种类型：

(1) 流动式比色：吸液器将试管内的有色溶液吸入固定的比色杯，进行比色后再吸出，此为单通道比色系统。这种比色杯也称流动比色池，如图 5-16-4 所示。半自动生化分析仪的比色系统都采用流动比色方式。

(2) 反应杯比色：反应杯兼作为比色杯，它以不同形式逐个连接在一起，按指定顺序通过光路，进行连续比色，如图 5-16-5 所示，是多通道全自动生化分析仪的比色系统。近年来出现了一种袋式自动生化分析仪，它的反应杯是一种用特殊塑料制成

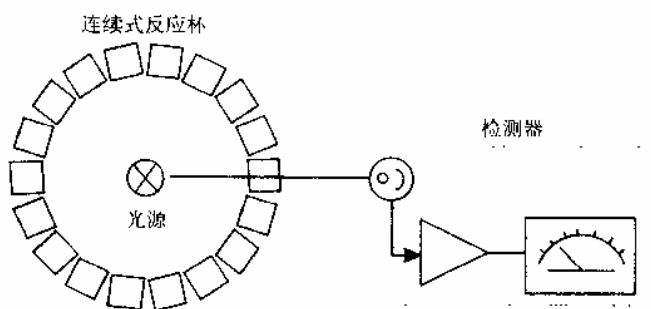


图 5-16-5 反应杯比色光路示意图

的试验袋，比色方式属于反应杯连续比色。

(二)信号检测器

信号检测器的功能是接收由光学系统产生的光信号,并将其转换成电信号并放大,再把它们传送至数据处理单元。信号接收器一般为硅(矩阵)二极管,信号传送方式有光电信号传送和光导纤维传送两种,光导纤维传送技术更先进,可消除电磁波对信号的干扰,传送速度更快。

二、样品、试剂处理系统

该系统包括放置样品和试剂的场所、识别装置、机械臂和加液器。功能是模仿人工操作,识别样品和试剂,并把它们加入到反应器中。

(一)样品架(盘)

样品架是放置样品管的试管架,试管架为分散式,通过轨道运输,可有单通路轨道和双通路轨道两种,后者可与样品前处理系统连接,实现实验室的全自动化。样品盘是圆形的,可以放置样品管或样品杯,通过圆周的机械运动传送样品。样品箱是供放置样品盘所用,一般为室温。有些大型仪器已设计了具有冷藏功能的放置标准和质控物的圆形样品盘,以供随时进行标准和质控的测定。

(二)试剂盘

试剂盘用于放置实验项目所用的试剂,为圆形。试剂箱供放置试剂盘用,可有1~2个,多有冷藏装置($4^{\circ}\text{C} \sim 15^{\circ}\text{C}$)。

(三)识别装置

识别样品和试剂的一种方法是根据样品的编号及在样品架或盘上所处位置来识别;另一种则是条形码识别装置。条形码识读器通过条形码对样品和试剂进行识别。其结构框图见图 5-16-6。

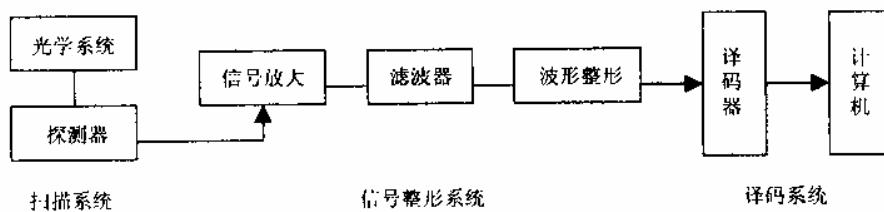


图 5-16-6 条形码识读系统结构框图

(四)机械臂

机械臂的功能是控制加液器的移动,根据仪器的指令携带加液器运动至指定位置。自动生化分析仪可有2~4个机械臂,它们是样品臂和试剂臂等。

(五)加液器

加液器由吸量注射器和加样针组成。吸量注射器是用特殊的硬质玻璃(塑料)制成,包括阀门注射器和阀门。早期分立式生化分析仪的加液器由采样器和加第一试剂的加液器组合而成,也称稀释器,结构如图 5-16-7 所示。现代的加液器都是采用各自的管路和加样针进行样品和试剂的添加,加上特殊的冲洗技术,减少了交叉污染。目前较为先进的

定量吸取技术是采用脉冲数字步进电机定位,定位准确,故障率低。如果加脱气装置,又可防止样品和试剂间的交叉污染,提高了加样的精度。加样针与静电液面感应器组成一体化探针,它具有自我保护功能,遇到障碍能自动停止并报警,可防止探针损坏。该系统可从特定的地点准确地吸取样品或试剂,并转移到指定的反应杯中。

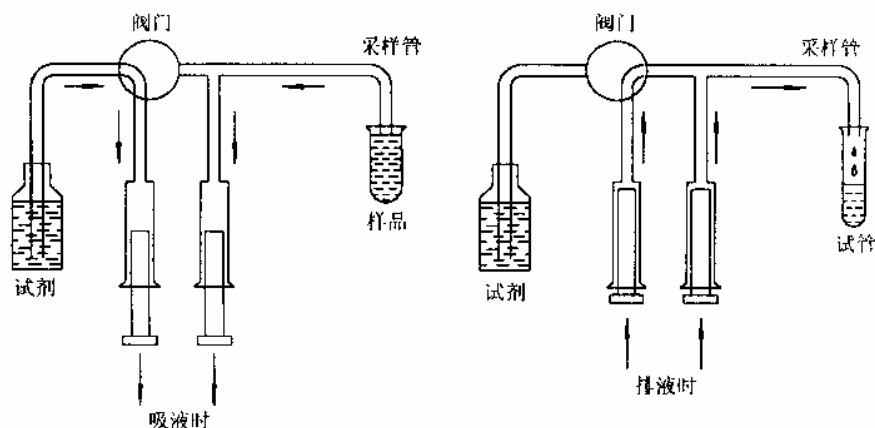


图 5-16-7 稀释器结构原理图

(六) 搅拌器

搅拌器由电机和搅拌棒组成,电机运动带动搅拌棒转动,速度可达每分钟数万转,使反应液被充分混匀。搅拌棒的下端是一个扁的金属杆,表面涂有一层不粘性材料(如特力伦),也有采用特殊的防粘清洗剂,其作用是减少携带率,从而使交叉污染率降至最低水平。

三、反应系统

反应系统由反应盘和恒温箱两部分组成。反应盘是生化反应的场所,有些兼作比色杯,置于恒温箱中。

自动生化分析仪通过温度控制系统保持温度的恒定,以保证反应的正常进行,其保持恒温的方式有三种,见图 5-16-8。干式恒温的特点是方便,速度快,不需要特殊的防护,但

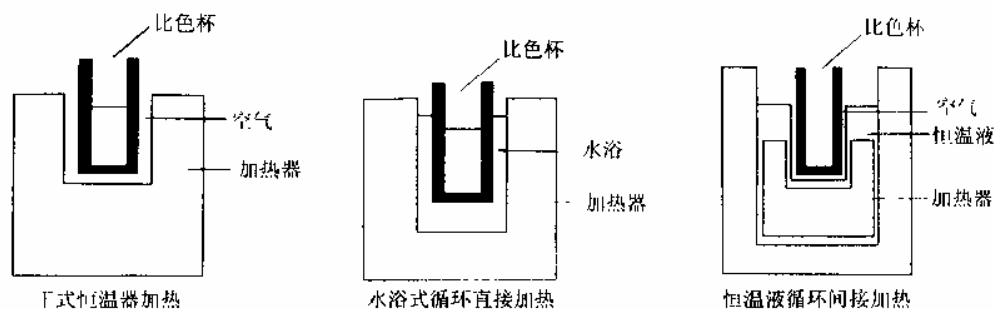


图 5-16-8 恒温方式结构示意图

稳定性和均匀性不足;水浴式循环加热式,特点是温度准确,可达 $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$,但需要特殊的

防腐剂才能保证水质的洁净;恒温液循环间接加热式,它的结构原理是在比色杯周围流动着一种特殊的恒温液(具有无味、无污染、不变质、不蒸发等特点),在比色杯与恒温液之间又有一个几毫米的空气夹缝,恒温液通过加热夹缝的空气达到恒温。其均匀性、稳定性优于干式,又有升温迅速,不需特殊保养的优点。恒温控制器可以对 25℃、30℃ 和 37℃ 三种温度进行恒温,根据需要任意选择,半自动生化分析仪恒温器属于这种。全自动生化分析仪的温度控制器一般只能控制 37℃ 一种温度,少数也可以控制 30℃ 和 37℃ 两种温度。

四、清洗机构

清洗装置一般由吸液针、吐液针和擦拭块组成,基本结构见图 5-16-9。可有五至九段

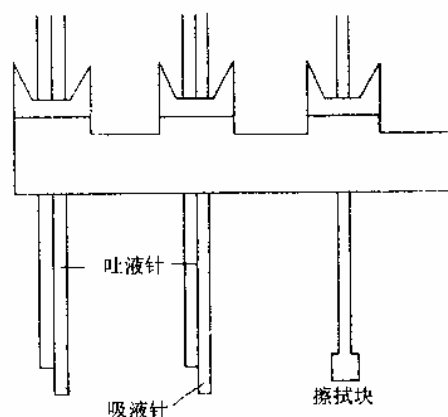


图 5-16-9 清洗机构示意图

清洗不等,段就是冲洗的步骤。清洗的工作流程为吸出反应液→吐入清洗剂→吸干→吐入去离子水→吸干→擦干。清洗剂可有碱性和酸性两种;吐入的去离子水在一些大型仪器上可以加热成温水,并且可反复清洗 2~3 次,有些还可以风干。这些功能有效地提高了洗涤效果,减少了交叉污染的程度以及测定的精密度和准确度。

五、数据处理系统

随着微机技术的进步,全自动生化分析仪的数据处理系统的功能日趋完善,主要表现在具有各种校准方法、测定方法、多种质量监控方式、项目间结果计算、各种统计功能、多种报告打印方

式、数据储存和调用等。

第二节 自动生化分析仪的分类

自动生化分析仪的分类方法一般以下几种。根据仪器的自动化程度的高低分为全自动和半自动两种;根据仪器的反应装置的结构原理,可分为连续流动式、分立式、离心式、袋式和干式五类;根据同时可测项目的数量分为单通道和多通道,单通道每次只能检查一个项目,但项目可换,多通道每次可同时检测多个项目;按反应方式可分为普通液体型和干片式生化分析仪;根据选择方式又有随机任选式和固定项目式之分。随机任选式就是多通道分析仪,是目前全自动生化分析仪的发展趋势,干式分析仪也已逐渐走进临床化学试验室以至患者家庭。

一、半自动生化分析仪

半自动生化分析仪指在分析过程中的部分操作(如加样、加试剂、混匀、结果记录等步骤)由手工完成,而吸入反应液、保温、比色测定、吸光度监测、结果的计算、打印等功能由仪器自动完成。与普通分光光度计相比,优点是节省试剂、可进行连续监测法的测试、精密度高。且仪器的体积小,结构简单,灵活性大,价格便宜。

半自动生化分析仪主要用于动力学法、两点法及终点法的检测,可以采用人机对话方式进行操作。它有一个微量流动比色杯,由蠕动泵吸入和吸出反应液,最小比色液体积可少于 400 μ l。有 25℃、30℃ 和 37℃ 三种温度的控制器。到目前为止,可以输入、贮存 30~128 个项目的参数,根据需要选择不同的工作条件和检测项目。显示屏采用液晶显示,能显示字符或图形。打印机一般为 40 行热敏式自动打印机,有极好的清晰度。光学组件有滤片(插入式、转轮式)、固态元件或全息式衍射光栅三种,有 6~8 个波长或连续可调,波长范围 330~800nm,通常是 340~630nm,个别仪器可达 1100nm。吸光度范围 0~2.99Abs,吸光度分辨率为 0.001Abs,重复性:CV $\leq$ 1.5%。

近年来国内生产的半自动生化分析仪已有多种机型,其性能指标已接近进口产品。仪器的智能化程度也不断提高,且菜单是中文显示,适合各类人员使用。

二、全自动生化分析仪

全自动生化分析仪是从加样开始到结果打印完全由仪器自动完成的自动化仪器。操作者只需把样品放在分析仪的特定位置上,选择程序开动仪器即可等取检验结果。这类仪器功能全,灵活性大,易于操作,主观误差小,准确度、精密度和分析效率高。它们大多采用吸光度法,也有荧光光度法、光散射法、浊度测定法和离子选择性电极法,应用于常规生化、特种蛋白和药物监测等,既能用于终点法测定,又可用于各种动态法测定。主要的功能有随机安排程序、急诊优先;可选择不同的组合分析,就是把几个项目编成一组,如肝功能、肾功能等;根据需要选择打印方式,强大的贮存记忆功能,自检和自动报警;以及多种统计学处理功能。

(一)连续流动式生化分析仪

流动式是指测定项目相同的各待测样品与试剂混合后的化学反应在同一管道内流动的过程中完成。流动式又可分为空气分段系统和非分段系统。所谓连续式是整个分析过程在管道内连续流动过程中完成。连续流动式分析仪的工作原理是通过比例泵挤压泵管(试剂管、样品管、空气管),将样品依次连续吸入并沿样品管输送,样品流和试剂流在连续向前流动的过程中相遇、混合、透析(必要时)、保温、反应,然后被测定。

1. 空气分段系统 该系统是在样品输送的同时,由空气管吸入的气泡将由同样原理吸入并在试剂管道中连续流动的试剂分成均匀的节段,利用气泡分段来防止管道中各反应液在流动过程中的交叉污染。将几个单通道连续流动式分析仪结合起来,对一个样品同时测定几个项目(最多可测 12 个项目),命名为顺序多项自动生化分析仪(sequential multiple autoanalyzer),简称 SMA。这类仪器后来发展成为非分段系统。

2. 非分段系统 该系统的组成与空气分段系统相似,所不同的是用试剂空白或缓冲液来间隔每个样品的反应液。非分段系统又可分为流动注射系统和间隙式系统。流动注射系统的样品用转动阀加入液流,试剂流仍用比例泵驱动,不再加入空气。按此规律,样品依次连续地被检测。间隙式的特点是每一次进样都必须在前一样品的分析过程结束后(包括清洗)才能开始,而不能连续依次进样,每次进样之间有一定的时间间隔,故有人称之为不连续流动分析仪,大多数血气分析仪就采用这一原理。

(二)分立式自动生化分析仪

分立式自动生化分析仪是按手工操作的方式编排程序,并以有节奏的机械动作代替手工,按顺序依次操作的仪器。它与流动式分析仪结构上的区别在于,该类仪器的样品和试剂在各自的试管(或反应器)中进行,试管(反应器)可兼作比色杯。由采样器和加液器来取样和加试剂,一般无透析器,需机外除干扰。恒温器体积较大,要容纳需保温的试管或反应盘。其它结构与流动式基本相似,工作流程如图 5-16-10。分立式分析仪有单通道和多通道的,有固定项目式和随机任选式,也有大、中、小型之分。

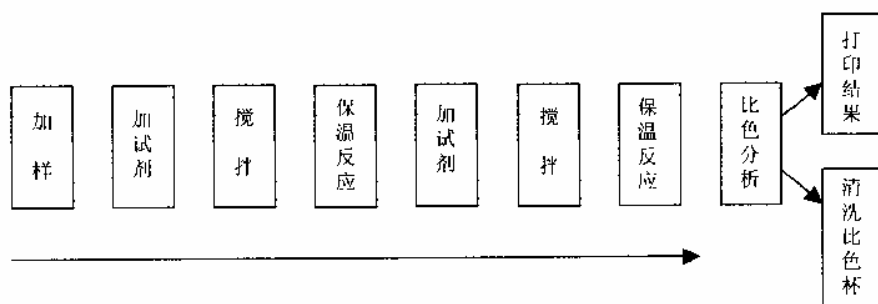


图 5-16-10 分立式生化分析仪工作流程框图

(三)离心式生化分析仪

离心式生化分析仪是 1969 年发展起来的一种机型,它的全部检验过程是在一个类似离心机转头样的圆盘上完成的,离心式分析仪由加样部和分析部两个部分组成。加样部分包括样品盘、试剂盘、吸样臂(或管)、试剂臂和电子控制部分等。分析部分,除安装转头的离心机外,还有温控和光学检测系统,以及微机信息处理和显示系统。

工作原理是先将样品和试剂分别置于转头内,当离心机开动后,受离心力的作用,试剂和样品相互混合发生反应,最后流入圆盘外圈的比色槽内,通过比色计检测。这类分析仪的特点是,化学反应器装在离心机转子位置,该圆形反应器就是转头。在整个分析过程中的每一个步骤几乎是同时完成的,属于“同步分析”的,不同于前两种分析是“顺序分析”。样品量和试剂量均为微量级(样品 1~50 μ l,试剂 120~130 μ l),分析速度快(600 test/h)。这些在当时其它类型的分析仪上是无法实现的。

(四)干化学生化分析仪

所谓干式分析仪采用的是干化学(dry chemistry)方法,就是将原来发生在液相反应物中的反应,转换到一个固相载体上,然后被检测。其原理是将某项测定所需要的全部试剂成分固化在具有特定结构的反应装置(试剂载体)上,当把样品加到载体上之后,液体成分将试剂溶解并发生反应,然后通过检测器检测反应信号。第一台干化学分析仪是 80 年代问世的,可以测定血糖、尿素、蛋白质、胆固醇等项目。干化学分析始于 1956 年的尿糖测定,随着光学和电子技术等高新技术在干化学领域的应用,使干化学分析技术有了长足的发展,从开始的目测或半定量,发展到现在用反射光度计进行定量检测的半自动和全自动分析仪,可与传统的湿化学分析仪媲美。干化学分析仪有单项(如血糖、氨等)和多项(心肌损伤指标)的小型仪器以及中、大型的全自动仪器,而且能进行包括电极技术在内的电解质分析。这类仪器分析速度快,操作简便,作为床边和急诊检测具有独特的优势。

干化学分析仪的结构特点主要表现在试剂片和检测器两个部分。试剂片采用涂层技术组成多层复合膜结构,由图 5-16-11 所示四个功能层分为展开层、两个中介层,一个显色剂层。展开层的功能是接受样品,它是由 TiO_2 、 BaSO_4 和醋酸纤维素构成的 $100 \sim 300 \mu\text{m}$ 的多空聚合物,孔径和厚度取决于特定分析的需要,这种毛细网状结构能使样品快速、均匀地分布到下一层。展开层可以阻留细胞、结晶和其它小颗粒以及一些大分子物质,如蛋白质等的滞留,还可以消除溶液、样品中影响测定的某些干扰物质。化学试剂层包括中介层和显色剂层,根据需要可由数十个功能试剂层组成,它们主要分为反应区和显色区。前者能将待测样品通过物理化学或生物酶等反应改变样品的物理化学性质,产生可与显色物结合的化合物。显色剂层利用特定的指示系统对待测物进行定量显色,且具有不透光的特性。

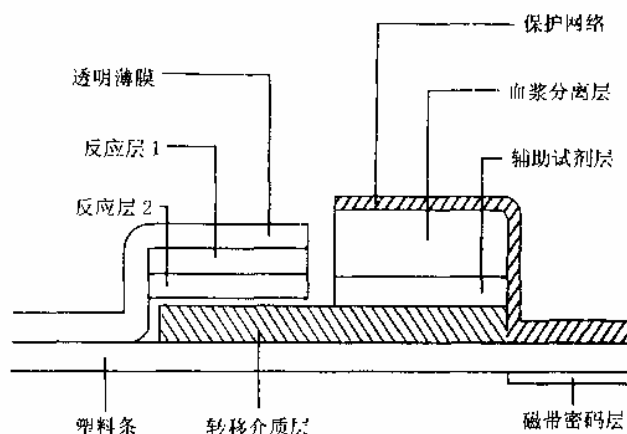


图 5-16-11 干化学试纸片结构图

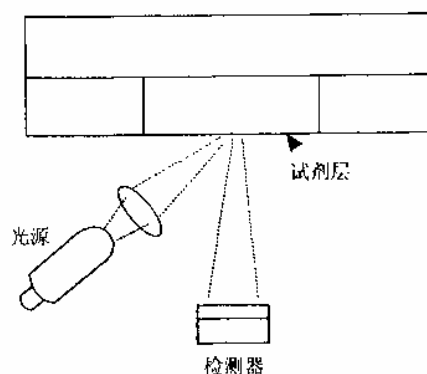


图 5-16-12 反射光度计原理示意图

干化学试剂片的定量测定与传统的透射光度计不同,采用的是反射光度法,依据反射介质不同,有多种理论,不过临床化学领域中常用 Kubelka-Munk 理论。按照这个理论,单色光照射到显色层面,产生光的反射,其反射光的强度与所显颜色的深浅即待测物的浓度成正比。反射光度计的测定原理见图 5-16-12。

(五)附加式和组合式自动生化分析仪

附加式自动生化分析仪就是将几个具有不同功能的分析仪融合在一台分析仪中,可同时完成血气、电解质、酶学、生化分析等。目前的一些大型全自动分析仪附加离子测定就属于这一种。

典型的附加式分析仪可以代替 7 个单独的仪器,意味着在一台仪器里具备一个基本固定的实验室。综合实验菜单包括 pH、 PCO_2 、 PO_2 、 HCO_3^- 、血球压积、Na、K、Cl、Ca、Mg、尿素、肌酐、葡萄糖,加上计算的阴离子隙、血红蛋白等,还可同时计算出 10 个血

气指标。由于合并了工作台,缩短了测定时间、提高了工作效率。这类仪器可以选择性地购置其中的几个部分,在需要时还可以继续配置升级。

组合式全自动生化分析仪是把大型全自动生化分析仪借助微机组合在一起完成测定。测定样品时按照微机分工指令由各仪器完成不同测定,相当于一条工业流水线。可以统一打印报告,贮存报告,统一管理。这类仪器的发展方向就是生化检验全系统自动化的实现模式。

第三节 自动生化分析仪的性能及评价

一、自动生化分析仪的性能

仪器的性能是人们选择仪器的主要依据。近年来,科学技术的不断进步,特别是电子技术和计算机技术飞速发展,使自动生化分析仪的性能和结构都有了很大的改进,新型仪器不断出现,功能和技术指标不断更新。这里仅就自动生化分析仪的主要技术指标和性能作一简要的介绍。

(一)自动化程度

自动化程度指在人发出指令后,能够由仪器自己独立完成工作的程度。如半自动生化分析仪能够完成比色、计算、打印结果等过程;全自动生化分析仪可以完成从加样品到打印结果的全过程。除此之外,自动化程度还包括其它许多内容,如单位时间可处理标本的能力,可同步分析的项目数等等。总之,对于一台生化分析仪来说,自动化程度越高,仪器的功能越强。其自动化程度的高低取决于仪器所使用微机处理功能的大小,一般可分为全自动和半自动生化分析仪,即使同是全自动分析仪,不同规格型号的仪器自动化程度也是有差异的。

(二)分析效率

分析效率是指在测定方法相同的情况下分析仪的分析速度。分析速度决定于一次测定中可测样品多少和可测项目的多少。如果是单通道分析仪,一次只能测定一个项目,分析效率较低。此时的分析效率指仪器一次可容纳的样品数量,一次可容纳的样品数量直接影响测试数量。对于多通道分析仪,一次可测定多个项目,节省了更换试剂的时间,提高了分析效率。离心式生化分析仪采用的是同步分析原理设计,测定中所有样品的混合、反应及比色几乎同时进行。加之加样部分和分析部分又可独立工作,一批样品分析和另一批样品的加样可交替进行,节约了时间,因此这类仪器的分析效率一般高于其它类型。但如果是只测一个样品一个项目有时还不如半自动分析仪快。

对于不同类型的分析仪,由于其结构和设计原理及微机应用程度不同,造成的自动化程度的差异,也直接影响其分析效率。全自动生化分析仪的分析速度一般表示为“test/h”,要考证它的实际速度,就要考虑到仪器一次可容纳的样品数及可测项目的多少,因此应进行综合分析。目前单台全自动生化分析仪的测试速度多从 180 test/h 到 2400 test/h。

(三)精度和准确度

自动生化分析仪测定的精度和准确度取决于仪器各部件(加液、温度控制、波长、计时

等)的加工精度和精确的工作状态。如分析仪采用的液体感应探针,准确吸样,使样品携带率低于 0.5%,不仅能准确地吸取微量样品,而且还能充分的混合反应液,提高测量的精度。此外,各厂家为了提高抗交叉污染的能力,采用了许多新型的设计。在搅拌装置的设计上,采用不粘的特力伦材料,减少携带,调整搅拌针的转速和旋转方式等。各种清洗方式,如加液针的冲洗,反应杯的温水清洗、加清洗剂的清洗、8 段冲洗、擦干、风干等。这些都将是交叉污染的程度控制在最低限度,有些已经接近零水平。恒温方式和测光方式也不断改进,凡此种种都使测定的精度和准确度达到了相当的高度。

(四)应用范围

仪器的应用范围指所能进行的分析方法以及可测定项目的种类,这是仪器的综合性指标,与仪器的设计原理及结构有关。分析方法除了分光光度法外,还能进行浊度法、离子选择性电极法、荧光法等测定。既可用终点法,也可作动态法检测,还可进行双项同测和同工酶测定。它使酶免疫技术、固相酶技术得以应用,从而在科研和技术生产开发中发挥更大的效益。可测定项目的种类,早期的自动生化分析仪一般只能测定常规的生化检验指标,近年来生产的全自动分析仪随着技术的进步,可测定免疫浊度法的特种蛋白、药物监测的分析和微量元素测定。目前很多分析仪都采用了双波长和多波长的光路技术,可以消除“背景噪声”,排除样品中溶血、脂血和胆红素的干扰。双试剂功能的出现又为消除样品的溶血、脂血和黄疸及内源性物质的干扰提供了有利的条件。通常小型的程序固定式的半自动化的分析仪,其应用范围相对较窄。

(五)其它性能

仪器的取液量、最小反应液体积和测试速度也是我们评价仪器的指标。取液量决定样品与试剂的比例,该比例的范围越宽越好,这样才能适应选择更多试剂和方法之用。最小反应液体积指可被光度计准确检测的最小的反应液体积,反应液体积越少,越节省试剂,减少开支。虽然仪器的测试速度越快效率越高,但也应该根据实验室的检测量进行合理的选择。

总之,自动生化分析仪的性能包括的范围很广,还有试剂的使用是封闭式供应还是开放式供应,以及仪器的性能价格比等等。在评价和选择时都应一并考虑,既要考虑物尽其用,经济实惠,又要能够取得最大的效益。

二、自动生化分析仪的评价

自动生化分析仪是一种高度自动化、高精度、高准确度、设计更为完善的分析仪器,一般不需要调节和校正。但在仪器开始使用之前,有必要进行一些技术指标的评价,如精密度、互染率、波长准确性、线性以及与其它仪器的相关性等。

(一)精密度评价

仪器的精密度测试主要有批内重复性和总精密度两个方面,反应仪器的测定结果的精密度。

1. 批内重复性 测定批内重复性就是对样品的某一个或几个项目各重复测定 20 次,计算它的 CV 值即不精密度,然后与厂家的该项技术指标进行比较。

2. 总精密度 以血糖为例,选择两个浓度(有医学决定水平的正常和异常值),每天

测定 2 批,每个浓度各平行两次,两批之间的时间间隔不少于 2h,连续 20d,要求每天必须做室内质量控制。然后计算总精密度(S_T)。

3. 与厂商估计的精密度或临床要求的精密度比较 将计算好的批内精密度和总精密度用 χ^2 检验法进行比较,若所计算的 χ^2 值小于表中的 χ^2 ,则说明所测精密度与厂商估计值无显著性差异。

(二)互染率

选择在任一波长有特异吸收的溶液,如配制浓度相差 5~10 倍的两个不同浓度的重铬酸钾溶液,在 340nm 处比色。在用蒸馏水调零后,先用低浓度的连续比色三次(L_1, L_2, L_3),然后用高浓度的比色三次(H_1, H_2, H_3),再用低浓度的比色三次(L_4, L_5, L_6)。互染率计算方法:

$$[(H_3 - H_1)/H_3] \times 100\% = \text{互染率}\% (\text{低浓度对高浓度})$$

$$[(L_4 - L_6)/L_6] \times 100\% = \text{互染率}\% (\text{高浓度对低浓度})$$

互染率越小越好,应小于厂商估计的互染率。目前自动生化分析仪的互染率一般都小于 1%,有些近乎于 0。

(三)波长校正

波长校正包括线性和准确性的检查。线性检查方法是用系列标准溶液在最大吸收处读取吸光度,然后绘制标准曲线或用回归法计算线性相关。准确性检查的方法有两种:①用已知准确摩尔浓度和摩尔消光系数(ϵ)的溶液在其特定波长比色,计算 $\epsilon = A$ 值/摩尔浓度,然后与标准 ϵ 比较。②与已知准确波长的仪器比较,如有漂移,应进行适当的校正。

(四)相关性

因为不同的仪器的测定结果之间不可避免地存在着一定的差别,为了取得一致的结果,有两台仪器以上的实验室,应该进行仪器间的校正。在仅有一台仪器时,为了得到实验室之间的一致性,也可以用参考实验室的仪器进行校正。方法是相同的试验项目在不同的仪器上测定,然后用线性回归进行比较和校正,一般的全自动生化分析仪都设有仪器校正程序。

第四节 常用自动生化分析仪器

由于微电脑控制和多波长分光光度计相结合的广泛应用,自动生化分析仪自 70 年代中期开始得到了迅速的发展,各种产品不仅在技术上不断进步,功能上也不断完善,可检测范围不断增加。目前自动生化分析仪的生产厂家及仪器类型很多,在此仅就在国内使用频率较高的几类主要机型作一简要介绍。

一、全自动生化分析仪

(一)HITACHI 系列自动生化分析仪

日立(HITACHI)系列生化分析仪是适合于各级医院临床化学检验的常用仪器,根据各类医院的工作需求设计制造的。目前我国市场上的主要机型有 7020、7060、7170A/S、7600 系列等。

日立系列生化分析仪的系统结构以 7170 型为例,如图 5-16-13 所示由两个样品盘、

两个试剂盘、两个清洗机构、两个试剂针和一个加样针、一个反应盘和槽、搅拌机构和光度计组成。日立系列生化分析仪的分析流程参见图 5-16-14, 主要过程是加样、加试剂、搅拌、全程监测吸光度变化, 清洗反应杯等。每项实验可加 1~4 种试剂, 可用两种清洗剂和两次温水冲洗。

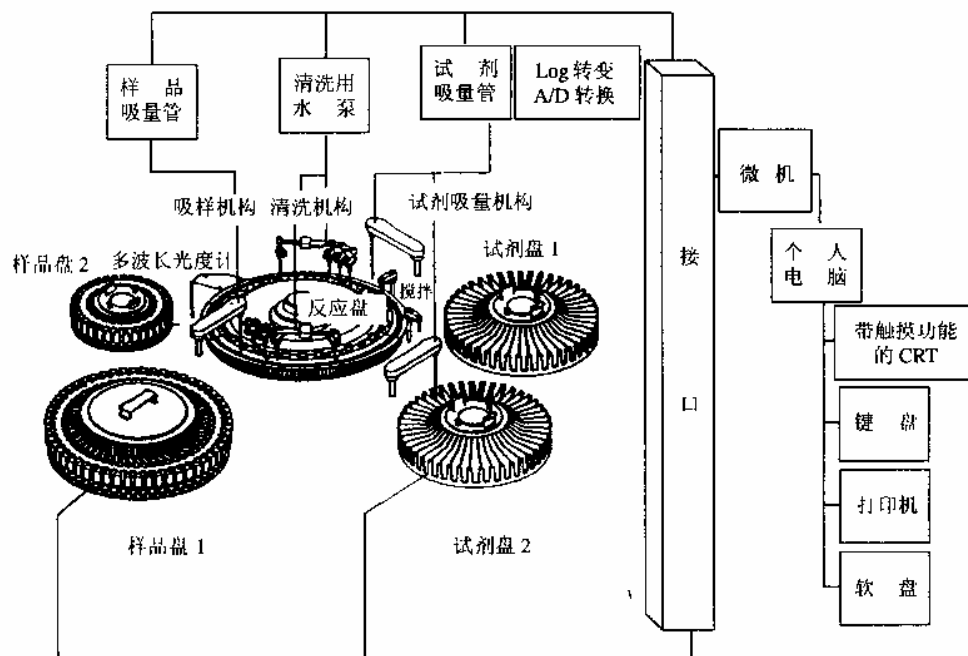


图 5-16-13 HITACHI 7170A 型生化分析仪系统结构图

模块式分析仪代表了超大型生化分析仪的发展方向, HITACHI 7600 系列产品属此类。7600 系列生化分析系统由样品传输、存储装置和 D、P 两种分析功能的基本模块, 通过各种搭配而组成, 样品的传输和存储部分在样品的前处理系统中介绍。P 模块是随机型的多项目分析模块, 有 44 个通道, 800 test/h。D 模块属多样品分析模块, 是 4 个项目为一组的半随机型分析模块, 有 16 个通道, 2400test/h。D、P 模块可以进行任意形式的组合。它具有极强的样本处理能力, 其自律性的分析单元和任意组合的扩展性, 各个模块即能独立工作, 也可以在工作中相互调配实验项目, 大大提高了工作效率。新的测光方式如图 5-16-15 所示, 使反应液更加微量化, 测光更加可靠。这些特点使该类仪器向着更加自动化和智能化的方向发展。

(二) OLYMPUS AU 系列自动生化分析仪

OLYMPUS AU 系列全自动生化分析仪的特点是设计先进、更新快, 机型主要有 AU 400, AU 640, AU 1000, AU 2700 等。

OLYMPUS AU 系列生化分析仪的性能特点为独特的三头双清洗式搅拌系统, 一组搅拌, 另外两组同时清洗, 保证搅拌更充分, 冲洗更干净, 交叉污染可减至最低。最新的智能化安全探针系统, 除了在遇到障碍时可自动停止并报警外, 还设计有探针阻塞报警装

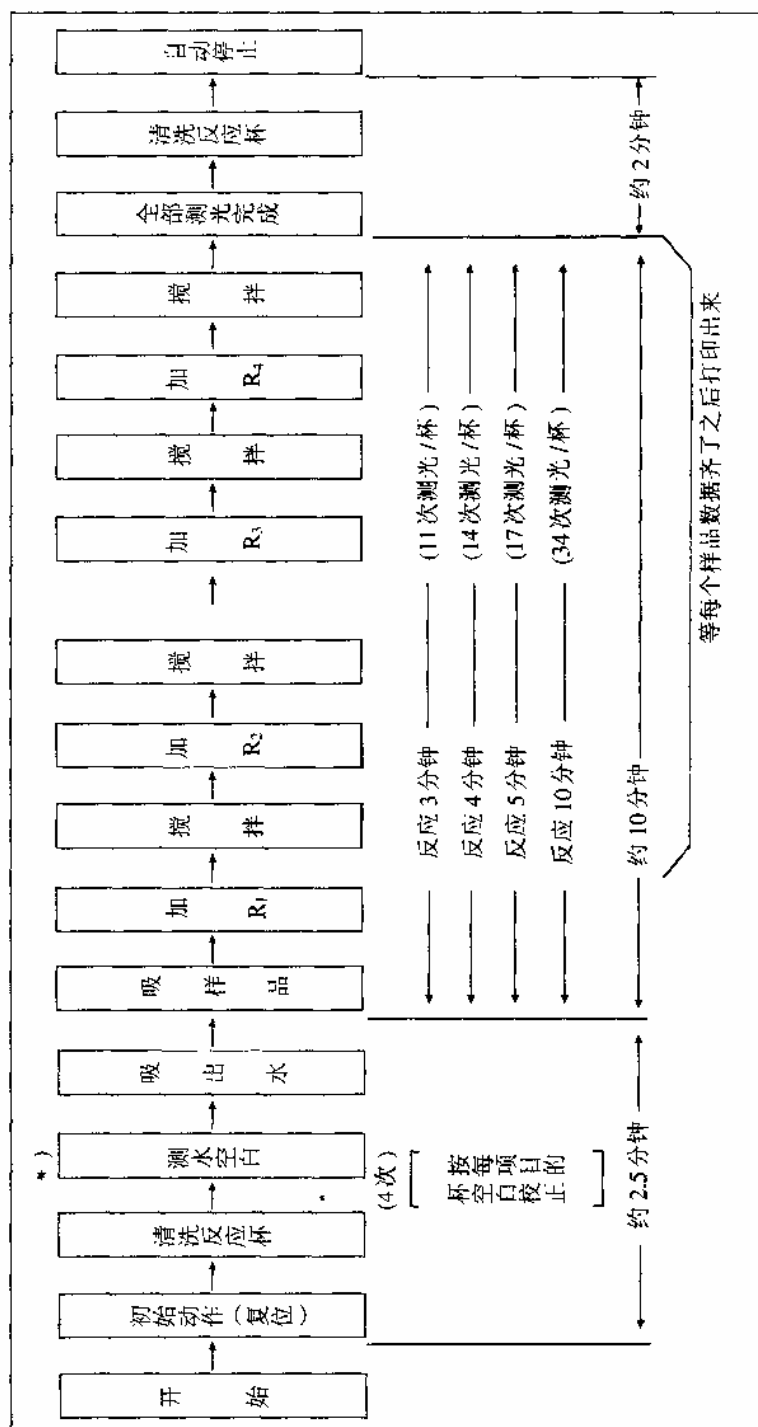


图 5-16-14 HITACHI 7170 A 型生化分析仪分析流程图

置,对凝块等纤维蛋白的阻塞可以起到安全防护作用。光学系统采用数字光纤传输检测信号,减少了各种干扰,提高了检测精度和速度。AU640 和 AU2700 还可以选设远程通讯功能,可通过电话进行远程监控。

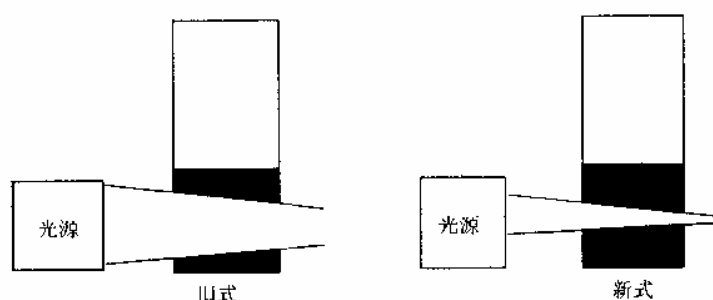


图 5-16-15 HITACHI 7600 系列新的测光方式示意图

(三) BECHMAN SYNCHRON 系列生化分析仪

进入 90 年代以来,SYNCHRON CX 系列全自动生化分析仪的出现使组合设计 (Modular Design)得以实现。主要型号包括 CX3 Delta、CX4 Delta、CX5 Delta、CX7 Delta、CX9 ALX 和 LX20。各种型号能独立处理特定需要,如 CX3 Delta 适合于急诊之用,CX4 Delta 适合于酶、基质、特定蛋白及药物等检测。也可以根据需要进行组合,发挥更大的功效,如 CX7、9 Delta 等。SYNCHRON LX20 全自动生化系统是新一代的临床检测系统,为提高工作效率注入新的能量。它运用直线型样品架可连续进样。有先进的凝块报警功能,测试速度 1440 test/h。电路部分以先进的智能模块取代了普通的电路板设计,以光纤替代普通电缆,使电讯号更加稳定,数据的传输速度更快,并设有 Modem,可进行远程诊断和服务。

贝克曼(BECHMAN)系列分析仪除上述几种主导系列外,还有特种蛋白分析仪和化学发光免疫系统。ARRAY 系列特种蛋白及药物分析仪是专为测定体液中的微量蛋白所设计,仪器原理为散射光测定法,主要是与其配套的免疫比浊试剂配合使用。灵敏度可达 $\mu\text{g/ml}$ 水平,检测项目主要是特种蛋白,如免疫球蛋白、载脂蛋白、急性时相反应蛋白、类风湿因子、抗“O”以及重链和轻链等。随着免疫化学的不断发展,免疫散射浊度法的应用使药物分析也进入了新的发展时期,部分药物的监测由原来繁琐的色谱分析而转入简便、快速、准确的免疫浊度分析时期,使之可由具有免疫比浊分析能力的仪器 (ARRAY 系列以及大多数的全自动生化分析仪)自动完成分析的全过程。

(四) Vitros 干化学分析系统

Vitros 化学分析系统是全自动干化学分析仪,主要有四种机型,即 Vitros DT60, Vitros 250, Vitros 750, 和 Vitros 950。后三种都是全自动的分析仪器,每小时可测定 250、750 和 950 个项目。而 Vitros DT60 是小型分析仪,仍需要人工加样,没有完全自动化,测试速度为 100 test/h,适合于小型医院、急诊及出现场分析。干化学分析仪与一般湿化学分析仪相比,优点是不需要任何辅助设备,如蒸馏水和冲洗剂等,校正一次可稳定半年,可以 24 小时开机,特别适合于急诊分析。此外,由于使用的是单个的试纸片,所以对标本量少

的项目分析更加方便、经济。

目前干化学分析可检测项目很多,经过近 20 年的发展,已可囊括 70 余项的化学分析。涉及的药物分析有平喘剂、抗惊厥剂、强心类和心脏类药物,常规化学中的酶、代谢物、脑脊液化学、电解质、血脂、蛋白质,毒物学分析,内分泌学的激素和特种蛋白等各个领域。

(五)其它

在国内市场上还有许多其它类型的全自动生化分析仪:

1. ABBOT AEROSSET™系列生化分析仪 是全自动、多信息入口、高速度的临床生化分析系统。本仪器利用成对的移液系统,在对样品进行化学分析和电位分析的同时,其最大反应速度为 2000 test/h。有 340~804nm 的 16 种波长,可 24h 开机,随时插作急诊。

2. TOSHIBA TBA-FR 系列全自动生化分析仪 是 90 年代设计生产的系列随机型全自动生化分析仪,主要有 TBA-30FR、TBA-40FR 和 TBA-80FR 等三种机型。

3. TECHNICON RA 系列全自动生化分析仪 国人引进最多的是 RA-1000 和 RA-XI 等机型。

此外,LAB-500 型全自动生化分析仪,是唯一的一种国产全自动生化分析仪。属于随机任选式中小型分析仪器,性能与上述分析仪器相比大同小异,分析速度在 100~200test/h 左右,适用于中小型实验室。

二、半自动生化分析仪

半自动生化分析仪主要适于标本量小,检测项目少的实验室使用。目前国内外的厂家和型号众多,主要结构由光源、分光组件、流动比色池、进排样系统、恒温系统、打印机、微机控制系统、显示和键盘、电源开关等组成,此处以国产机型为主介绍。

(一)GF 系列半自动生化分析仪

该系列仪器是一类具有较多生化分析检验功能和较强适应能力的生化分析仪器。其 GF-D 型半自动生化分析仪是结合我国各级医院的实际情况而专门设计生产的全中文半自动生化分析仪,是新一代理想的生化检验仪器。

1. 分光元件 采用全息式光栅替代滤光片,波长连续可调,减少了波长误差,使用寿命较长。

2. 测定和校正方法 可以进行连续监测法、两点法、线性终点法、非线性终点法、吸光度法、单双波长法进行检测。

3. 微型计算机的功能

(1)大屏幕中文及图像显示。可人机对话,并执行各种形式和任意数据的打印。

(2)内存 200 个生化项目,采用全开放式编程。可内存 31 天内的质控和 3000 多个测试项目的结果。

GF-E 型半自动生化分析仪是一种新开发的适合基层医院使用的检验设备,它采用特殊工艺制造的滤光片分光,该种滤光片耐潮湿、耐高温,寿命较长,可自动选择波长。机内有固定项目 52 项,自选项目 8 项。可使用标准测量法,和因数测量法。

(二)ANALYTECH 系列半自动生化分析仪

主要有 ANALYTECH-738 和 ANALYTECH-658 两种。主要技术指标及性能是:有

340~630nm 七块干涉滤光片,吸光度范围 0~2.5Abs;测试方式为终点法、二点法、连续监测法、双波长法,可进行单点和多点(3~6 点)定标以及线性和非线性校正;可设定两个质控标本,进行实时质控,并可随时插入测定和显示;全中文显示和多种形式的打印功能。

第五节 自动生化分析仪的使用和分析方法

一、分析仪的使用

(一)工作环境

生化分析仪的工作环境主要有:电压 110V(通过变压器转为 220V)和 220V 两种,电流 50~60Hz,温度 15℃~30℃,湿度≤85%,仪器用水要求电导率<1 μ S。应远离强磁场的干扰。

(二)生化分析仪的安装

不同类型的仪器有所不同,半自动生化分析仪的安装与分光光度计相似,全自动生化分析仪的安装一般都由厂家派工程师负责,并负责培训。

(三)仪器的操作

不同的仪器操作不尽相同,因此操作和注意事项请严格按照仪器说明书建立操作规程,然后以此为依据进行操作。如出现故障,立即按故障说明上的指示来检查故障原因、排除故障,或与厂商联系,必要时由厂方派人维修。

(四)仪器的维护保养

各种自动生化分析仪的维护保养都有一定的程序:每日、每月、三个月、半年等,主要的内容就是进行清洗和易损部件的更换,以及一些性能的检查,如反应杯(比色杯)的清洗或更换,灯泡的光量检查或更换等。这些都是根据各种仪器自身的要求进行特定的维护和保养。对一些技术性较强的维护由厂方派专人进行。生化分析仪的维护保养正向着有效和简单的方向发展,以适合大多数人使用,并能保证仪器的正常运行和具有较长的使用寿命为目的。

(五)建立配套的分析系统

分析系统是把方法、仪器、试剂和校准物(标准物)相配套,组成一个分析系统。开放式的试剂系统是选择仪器的一个重要指标,但自动生化分析技术的实践经验证明只有使用标准的分析系统,才能得到准确可靠的结果。在选择试剂和校正物时,应结合实际情况尽可能的使用配套的分析系统。

二、自动生化分析方法

自动生化分析方法首先是基于常规生化实验室的基本方法,如终点法和连续监测法。由于自动分析仪使用了高新技术,使这些方法得到了扩展。终点法包括单波长和双波长终点法、比色法和比浊法,一点终点法和二点终点法。连续监测法可分为速率 A、速率 B、二点速率,也可选择双波长。校正方法有多点线性校正、非线性的对数校正和量程法。

(一)终点法

终点法是实验室最常用的方法之一。它是反应混合物经一定时间反应后,达到平衡(终

点),即在呈色反应处于稳定阶段时,检测其颜色对光的吸收强度,以此计算待测物的浓度。

1. 一点终点法 一点终点法的特点是使用一种或两种试剂。当样品和试剂混合后,待测物与试剂的物理化学反应达到终点时,测定一次吸光度,计算待测物的浓度。该法具有代表性的试验有:总蛋白、清蛋白、葡萄糖氧化酶法等,手工操作的大多数方法都是一点终点法。如图 5-16-16 所示。

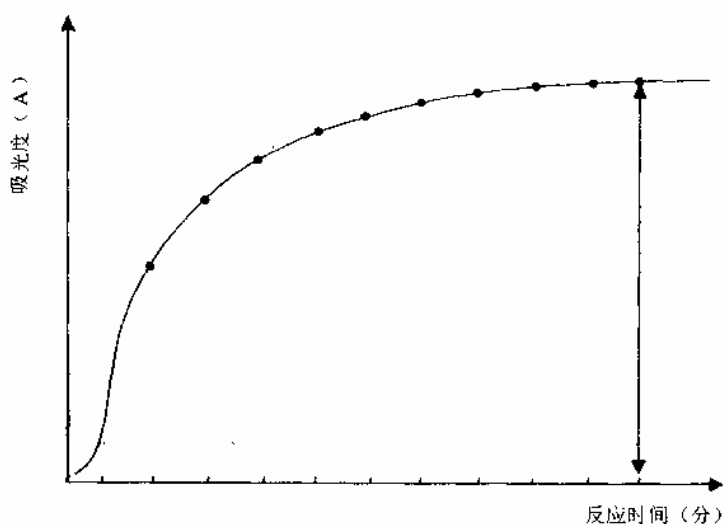


图 5-16-16 一点终点法反应示意图

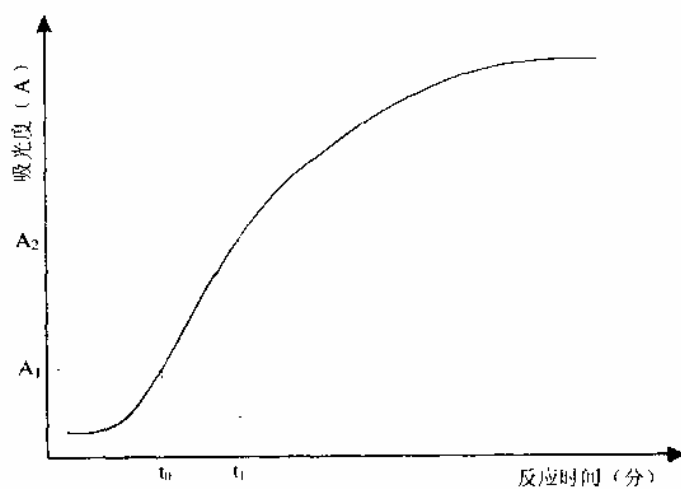


图 5-16-17 两点终点法反应示意图

2. 二点终点法 二点终点法也称固定时间法,它可以用一种试剂,也可以用二种试剂。这种方法的应用主要是近年来,可加双试剂的自动分析仪的问世后,便被广泛应用。优点是可以消除样品、试剂的颜色、浊度,以及一些干扰物质对测定的干扰。如果是单试

剂,在样品与试剂混合后的延滞期后读取 A_1 ,一定时间后读取 A_2 , $A = A_2 - A_1$,然后比较标准和测定的 A 值,求得待测物的浓度。Jaffe 氏法测定肌酐就是一个典型的单试剂二点法的例子,见图 5-16-17。双试剂的二点法属于试剂启动法,原理是加入样品—试剂 1—读取 A_1 —试剂 2—读取 A_2 。其中也是读取两次吸光度,第一次是相当于读出样品空白的值,加入试剂 2 至第二次读数才是实际呈色反应,因此 $A = A_2 - A_1$ 。

3. 比浊法 比浊法也是一种终点法,不过是一种浊度测定,而不是比色测定。比浊法可用于化学比浊法和免疫比浊法,免疫比浊法又分为透射比浊和散射比浊,后者需要特殊的散射浊度计,而自动生化分析仪一般只能作透射比浊。目前常用的免疫比浊法主要用于血清特种蛋白的检测,如载脂蛋白、微量蛋白、急性时相反应蛋白、免疫球蛋白等,以及某些药物监测。

4. 双波长法 双波长法不仅适用于终点法,也可用于动态监测法。其原理是检测计在对一待测物进行检测时,同时用两个波长检测,用主波长的吸光度减去副波长的吸光度,标准物与待测物同等对待,计算待测物的浓度。优点是可以通过消除背景吸收,而减少样品的颜色和浊度所产生的影响,它不仅可以有效地校准样本的混浊、溶血、黄疸等,还可对电源波动有补偿效果。这种方法也是较新型的自动分析仪的特点之一。

(二)连续监测法

连续监测法属于动态法检测的一种,适用于酶活性和代谢物检测,多有酶的参与。连续监测法是通过适当的仪器,连续测定酶促反应过程中某一反应产物或底物的浓度随时间变化的情况。原理是在酶反应的最适条件下,用物理、化学或酶促反应的分析方法,在反应速度恒定期(零级反应期)来连续观察和记录一定反应时间内底物或产物量的变化,以单位时间酶反应初速度计算出酶活力的大小和代谢物的浓度。计算方法有两种:①绝对法:酶活力(U/L) = $\Delta A \times (\text{反应液体积} / \text{样品体积}) \times (1000 / \text{消光系数})$ 。②相对法:(U/L 或 mmol/L) = $[\Delta A(\text{测定}) / \Delta A(\text{标准})] \times \text{标准物的活力或浓度}$ 。

连续监测法又称为速率法,其检测方法都是在反应呈线性期连续观察,计算出单

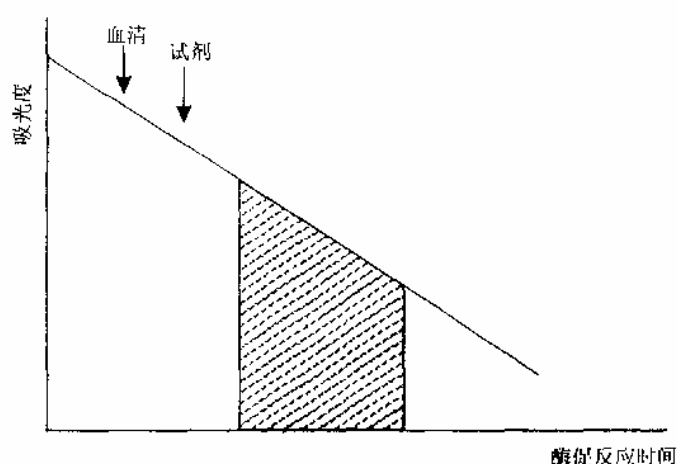


图 5-16-18 最小二乘法(速率 A 法)连续监测法示意图

位时间内吸光度值。其具体方法如下。

1. 两点速率法 观察两个时间点的吸光度,与单试剂二点法相似,但必须是在零级反应期。用两个吸光度的差值(ΔA)除以时间(分),计算出每分钟的吸光度值。

2. 多点速率法 在酶促反应进程的零级反应期间每隔一定时间(2~30s)进行一次监测,连续监测多次,求出单位时间内的反应速度即 ΔA 。这种方法又可分为:

(1)速率 A 法(图 5-16-18):速率 A 法也称最小二乘法,它是最小平方法求得每分钟的吸光度变化(ΔA),从而求出浓度或活性值,是全自动生化分析仪上最常使用的速率法。

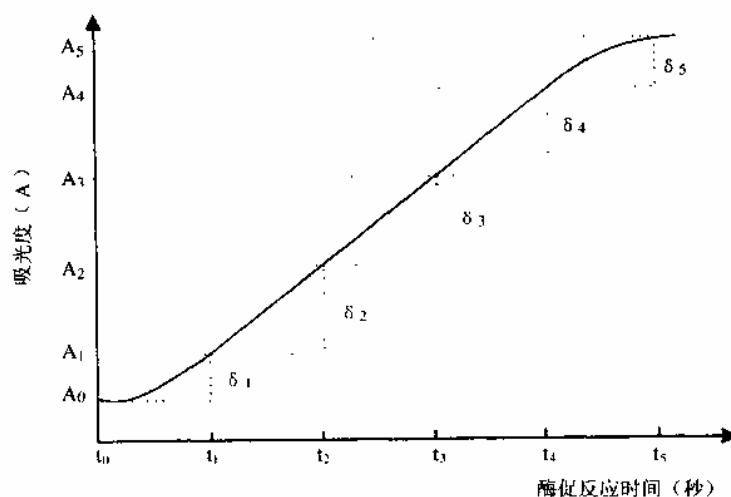


图 5-16-19 多点 delta 连续监测法示意图

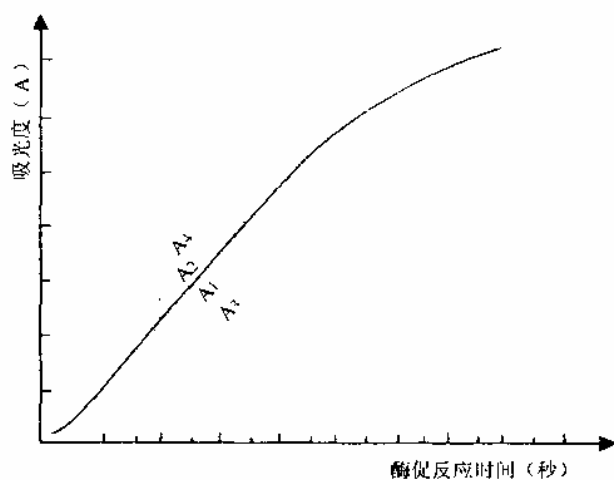


图 5-16-20 带速率时间法监测示意图

(2)多点 delta 法(图 5-16-19):该法是求出各点吸光度差即 $\delta = A_n - A_{n-1}$,取符合线性反应段的 δ 值,计算酶活力。仪器内已设置好符合线性反应条件,如 $r=0.95$ 或 $r=0.85$,

如果小于它们,则弃去。

(3)回归法:该法是对获得的数据进行回归分析,去掉斜率值过大过小的部分,取线性部分,计算酶力单位。

(4)带速率时间法:带速率时间法是由于连续观测的间隔时间太短,产物生成或底物消耗的量太少无法准确监测而采用的一种方法。如图 5-16-20 所示,从 40s 开始,每隔 2s 读取一个数据, T_R 为 30s, A_1 为 40~70s 的 A 值, A_2 为 42~72s, A_3 为 44~74s 的值,如计算至 100s,可收集到 30 个数据,计算出线性部分的 $A/\min(\Delta A)$ 以至酶活力。

(三)双项同测法

多项同测法是指在反应过程的不同时间向同一个比色杯中加入几种试剂,并能够测定两个或两个以上的项目。

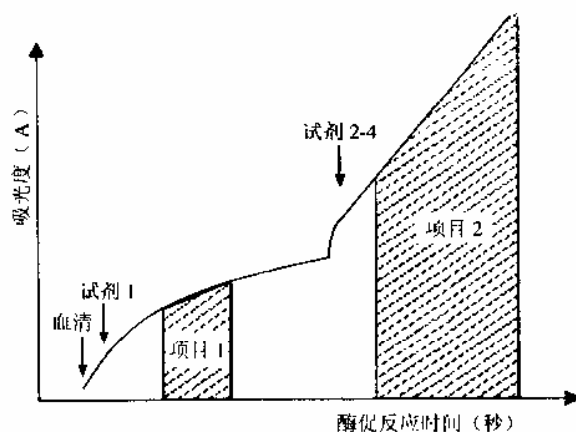


图 5-16-21 同波长双项同测连续监测法示意图

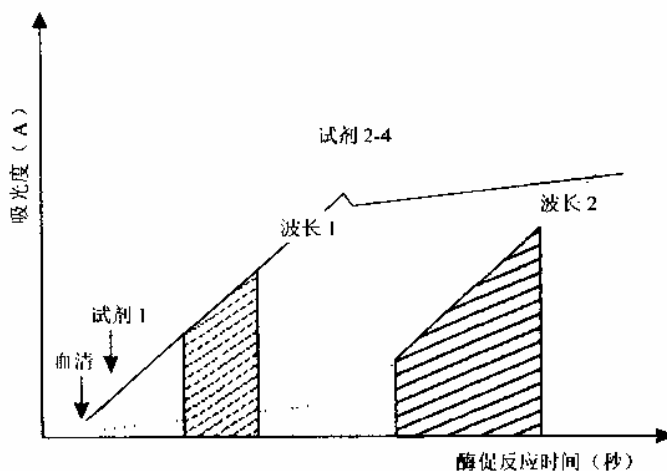


图 5-16-22 不同波长双项同测连续监测法示意图

1. 双项同测连续监测法 即用连续监测法作二个项目的测定,如图 5-16-21 的 AST、

ALT测定,加入第一种试剂测定AST,再加入第二种试剂测定ALT,它们是使用的相同波长,也可以是二个不同的波长,如图5-16-22的速率B法。

2. 三点双项同测法 即在同一个比色杯中,先后加入试剂,用终点法测定第一个项目,再加入几种试剂用速率法测定第二个项目,共测定了三次吸光度,与图5-16-21不同的只是第一个项目为终点法。

三、生化分析仪的参数设置

生化分析仪的参数就是仪器工作的指令,操作者通过设置正确的参数控制仪器完成一系列复杂而有序的操作程序。指挥仪器工作的参数很多,有些参数是在生产制造中设置好的,如机械操作、计算机软件等,只需选择就可进行工作。此处所说的参数设置是指设置某个具体测试项目指令,主要包括试剂量、样品量、测定方法、校正方法、反应时间、测定波长和控制因素等。

(一)样品与试剂的比例

样品与试剂量的确定一般按照试剂说明书上的比例,并结合仪器的特性进行设置。仪器的特性有:样品和试剂的最小加样量及加量范围、最小反应液的体积等。

(二)测定方法

在本节中介绍了几种常用的分析方法,半自动生化分析仪一般具备其中的一点终点、两点终点(单试剂)、连续监测法(只能是一种固定方法)。全自动生化分析仪的功能较全面,具有前述的各种方法,可根据需要进行选择。

(三)校正方法

仪器内设置的校正方法一般包含二点校正、多点校正、线性、非线性(对数、指数法、量程法)等。

二点校正是指用一个浓度的标准品和一个试剂空白进行校正的方法,该法要求反应必须符合朗伯-比尔定律,即标准(工作)曲线呈直线。多点校正是多个具有浓度梯度的标准品用非线性法进行校正,适用于标准(工作)曲线呈各种曲线形式的项目,如多数的免疫浊度法。非线性校正包括各种对数和指数校正及量程法校正,标准曲线呈对数或指数曲线特征的项目选择所对应方法校正。量程法则是根据标准曲线上每两点间浓度与吸光度的关系计算待测物的浓度。

(四)反应时间

生化反应的时间是某一项目所特有的,根据所采用的测定方法不同而异。一点终点法的总蛋白为10min,清蛋白1min。速率法应为两个时间点,延滞时间和测定时间,如谷丙转氨酶延滞时间1min,测定时间2min。反应时间应根据试剂说明书或自己试验观察,作合理的选择和设置。

(五)测定波长

波长的设定根据特定反应产物对光吸收的特点选择测定波长,如NADH和NADPH是340nm,硝基苯类为405nm,有色溶液则由其对光的特异性吸收波长而定。除了测定波长外,双波长测定还要选择有效的副波长。副波长的选择原则是干扰物在主波长的吸收与副波长有等吸光率或越接近越好,如己糖激酶法测定血糖主波长为340nm,副波长可选

380nm,因为血红蛋白在这两个波长的吸光度相同,对消除溶血和浊度的影响比较有效。还应该注意副波长不能设在有色物吸收的灵敏区域内,否则会降低测定的灵敏度。

(六)其它条件

测试参数还有许多内容,与一些技术指标有关。如试剂空白值的上下限、线性范围的上下限、反应液吸光度的上下限、参考值的上下限、标准测定的重复性以及质量控制规则等等,都可以对在反应过程中可能影响结果准确性的因素加以控制和排除。

第六节 样品前处理系统

根据大量调查发现,目前使用全自动生化分析仪的实验室,工作量的分配大致是,样品前处理占 30%,样品分析约为 40%,信息处理 20%,其它工作约 10%。由此看来,样品的前处理占用了大量的工作时间。为了提高医疗服务的效率,满足不同层次临床实验室的需求,实现实验室的全自动化,许多仪器生产商于 90 年代中后期开始研制样品的前处理系统。迄今为止,已有 10 多个厂家从事这方面的工作。样品前处理系统的工作任务是将标本分类、离心、分装、编排、运送、存储等,不仅用于生化分析的样品处理,还可以用于免疫/血清、血液常规分析和尿液分析等各种标本的样品的分类和运送。本节以 HITACHI 的样品前处理模块系统为例进行介绍。

一、样品前处理系统的模块及功能

HITACHI 样品前处理系统采用模块技术方式,由九种不同的功能模块组成,各自执行特定的功能,可以根据需要进行选择。该系统主要有如下模块:进样模块、样品存储模块、离心模块、脱塞模块、闭塞模块、在线分注模块、非在线分注模块、条形码标识模块、样品分类模块,其中进样模块和样品存储模块是核心装置。

(一)进样模块

进样模块分为急诊和常规样品放置部和样品取出部,以及 ID 识读者。其功能就是将待检样本通过识别运送至指定位置,急诊部一次可放一个试管架,每架 5 个样品,常规部可放置 60 个试管架,取出部 15 个试管架。

(二)样本储存模块

该模块负责储存已检测完毕或等待复查的样品,由复查样品部、原始架收存部(30 个架)和收存部(60 个架)三部分组成。

(三)分离模块

离心分离模块可以将进样模块运来的样本根据要求进行自动离心,由缓冲部和离心机组成。缓冲部可放 8 个试管架,停放等待离心的样本。离心机由互为垂直的四个套管组成,可容纳 40 个标本,有离心处理机械手协助操作。每 5min 能分离 250 个标本,旋转速度:1500~3000rpm,有冷藏功能和自动平衡功能。

(四)开塞模块

开塞模块是将试管上的橡皮塞取掉,进入分注程序。

(五)在线加样模块

在线加样模块即联机加样(或称分注)模块,分为 A 线和 B 线,功能是将原始试管中

的血样分别加到第二级子试管中,然后被运送到与该系统相连的各个分析系统。

(六)非在线加样模块

非在线加样模块也称脱机加样或分注,该模块的功能是为该系统之外的分析仪器分装血样,即将原始试管中的血样加到子试管中,供作其它分析用。它的加样量可在 1.5 ~ 3000 μ l 左右,精度略低于全自动生化分析仪。

(七)条码粘贴模块

该模块的功能就是根据指令为分注后的二级子试管粘贴条形码。

(八)闭盖模块

加样结束后,该模块盖好橡皮塞,将试管送入样品储存模块,以防挥发。

(九)标本分类模块

完成上述处理过程之后,该系统将标本按要求分门别类的分开,输送到专门的分析仪器上(如生化、血液、免疫等)进行检测分析。

二、模块组合系统

样品前处理系统的 9 种模块,可以根据所需要的功能和处理能力进行选择。共有 11 种形式的组合,各种组合系统的具体模块组成请参见表 5-16-1。

表 5-16-1 11 种前处理系统的模块组成

模 块 型 别	进样	离心	脱塞	在线分 注	条码标 识	闭塞	样品分 类	非在线 分注	样品存 储
Type A	1		1					1	1
Type B	1		1					2	1
Type C	1		1	1				1	1
Type D	1	1	1	1	1			1	1
Type E	1		1	1	1	1	1		1
Type F	1	1	1	1	1	1	1		1
Type G	1	1	1	1	1	1	2		1
Type H	1	2	1	1	1	1	2		1
Type I	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Type J	1	2	1				2		1
Type K	1			1	1		1		1

这 11 种组合系统中,A、B 两型是基本型,包括脱塞和脱机分注模块,可以直接与分析部分相连接,适合于小型实验室和参考实验室。C 型在基本型的基础上可以进行在线分注,即根据实验要求将标本分配到样品架的试管中,然后被运送去检测。D 型又增加了离心装置,可以将标本进行自动离心,适于中等实验室较大量标本的前处理。E、F、G、H、K 各型除了非在线分注外,包含其它 8 种模块,都有条形码标识模块,适合于大、中型实验室全系统分析的样品前处理使用。I 型为全模块系统,9 种模块都有,可以进行各种样品的前处理工作。J 型特别适合作样品的离心、脱盖和分类等。

三、特 殊 功 能

样品前处理系统采用了一些新技术,因而具有以下几个特殊功能,使之可以进行有效

而准确的工作程序。

(一)自动避让功能

进样系统采用双轨道,即主线和副线,这样可以通过模块对不同线路上的样品架用不同的速度加以处理,能使样品的运输得到有序而高效地运行。

(二)非吸量器型的分注系统

结构如图 5-16-23 所示,通过收、拉波纹管的机制采取样品,这样不仅分配准确,而且减少了大量的维护工作。

(三)非同步自律分配系统

每一个模块拥有自己的控制循环,可以通过控制信息和处理信息实现自主分配系统。从而使样品架能够以不同的循环时间间隔在不同的模块间有效的传送。

(四)自动平衡机制

自动离心模块设计有自动平衡机构(图 5-16-24),由位于离心机中央的钢球来完成这一功能。即使是一根试管,也无需配平就可进行离心分离。

样品前处理系统的发明是医学领域临床实验方面的技术革命,使实验室的自动化进入了一个新的历史时期—实验室全系统自动化。由于完美的模块型设计可节省 40% 的放置空间,并且可以根据需要进行系统组合,在工作需求增加时又可以自由扩充并支持升级,一体化的

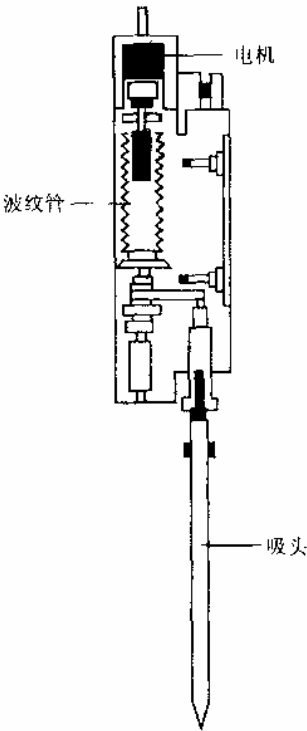


图 5-16-23 非吸量型分注系统结构图

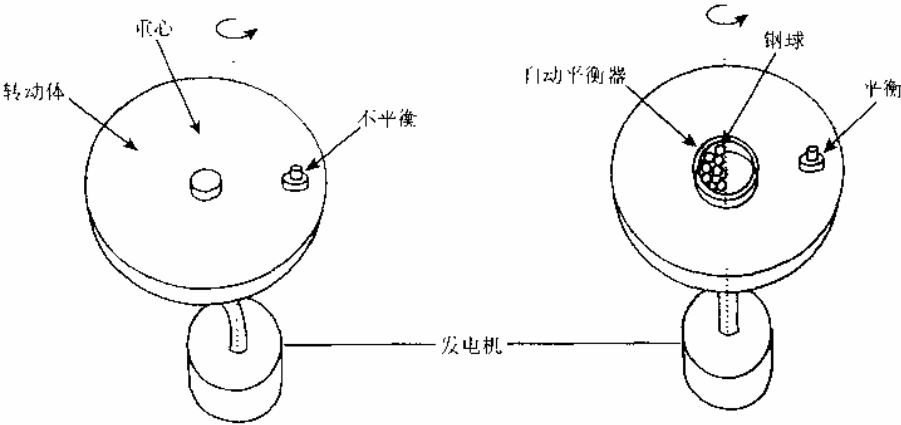


图 5-16-24 自动平衡机制示意图

模块系统设计使得操作更简单、更方便,节省了许多开支,减轻了劳动强度,是实验室发展的必然趋势。

二、自动生化分析仪的基本结构及工作原理

(一) 基本结构

1. 按照反应装置的结构，自动生化分析仪主要分为流动式(flow system)、分立式(discrete system)两大类。

(1) 流动式：指测定项目相同的各待测样品与试剂混合后的化学反应在同一管道流动的过程中完成，这是第一代自动生化分析仪。

(2) 分立式：指各待测样品与试剂混合后的化学反应都是在各自的反应杯中完成的，其中有几类分支。

1) 典型分立式自动生化分析仪：此型仪器应用最广。

2) 离心式自动生化分析仪：每个待测样品都是在离心力的作用下，在各自的反应槽内与试剂混合，完成化学反应并测定。由于混合、反应和检测几乎同时完成，它的分析效率较高。

3) 袋式自动生化分析仪：是以试剂袋来代替反应杯和比色杯，每个待测样品在各自的试剂袋内反应并测定。

4) 固相试剂自动生化分析仪：亦称为干化学式自动分析仪，是将试剂固相于胶片或滤纸片等载体上，每个待测样品滴加在相应试纸条上进行反应及测定。操作快捷、便于携带是它的优点。

2. 典型分立式自动生化分析仪的基本结构

(1) 样品(sample)系统：样品包括校准品、质控品和病人样品。系统一般由样品装载、输送和分配等装置组成。

1) 样品装载和输送装置的常见类型有：

a. 样品盘(sample disk)：即放置样品的转盘。有单圈或内外多圈，单独安置或与试剂转盘或反应转盘相套合，运行中与样品分配臂配合转动。有的采用更换式样品盘，分工作和待命区，其中放置多个弧形样品架(sector)作转载台，仪器在测定中自动放置更换。对样品盘上放置的样品杯或试管的高度、直径和深度有一定要求，有的需专用的样品杯，有的可直接用采血试管。样品盘的装载数以及校准品、质控品、常规样品和急诊

样品的装载数，一般都是固定的，这些应根据工作需要选择。

b. 传动带式或轨道式进样：即试管架(rack)不连续，常为 10 个一架，靠步进马达驱动传送带，将试管架依次前移，再单架逐管横移至固定位置，由样品分配臂采样。

c. 链式进样：试管固定排列在循环的传动链条上，水平移动到采样位置，有的仪器随后可清洗试管。

2) 分配加样装置大都由注射器、步进马达或传动泵、加样臂和样品探针等组成。

a. 注射器(syringe unit)：根据注射器直径和活塞移动距离的多少，定量吸取样品或试剂。它的精度决定加样的精度，一般可精确到 1 微升。注射器漏液时，首先考虑是否探针堵塞，其次是注射器活塞磨损等等。有的加液系统采用容积型注射泵和数控脉冲步进马达，可提高精度。

b. 样品探针(probe)：与加样臂相连，直接吸取样品。探针均设有液面感应器，防止探针损伤和减少携带污染。有的设有阻塞检测报警系统，当探针被样品中的血凝块等物质阻塞时，仪器会自动报警，冲洗探针，并跳过当前样品对下一样品加样。有的还有智能化防撞装置，遇到阻碍探针立即停止运动并报警。即使如此，它仍是非正规操作时的易损件。为了保护探针，除预先需要根据样品容器的底高、最低液面高度等进行设置外，样品容器的规格、放置位以及液面高度等设定条件不得随意改变。在某些仪器上，采样器和加液器组合在一起，加样品和加试剂或稀释液可用一个探针一次完成。

c. 加样臂：连接探针，在样品杯(试剂瓶)和反应杯之间运动，完成采样和加样(加试剂)。它的运动方式与仪器工作效率及工作寿命有一定关系。

d. 阀门：用以决定液体流动的方向。

e. 稀释系统：对样品进行预稀释、过后稀释或加倍，对标准原液系列稀释，等等。不同仪器的稀释方式有所差异，要注意识别。试剂系统亦有稀释功能。

(2) 试剂(reagent)系统：系统一般由试剂储放和分配加液装置组成。

1) 试剂仓：常与试剂转盘结合在一起，多数仪器将试剂仓设为冷藏室，以提高在线试剂的稳定期。

2) 分配加液装置(dispense unit)：与样品系统的类似，试剂探针常常可以对试剂预加温。双试剂系统的试剂 2 (R2)探针的起始量宜较小，以便配合不同 R1/R2 比例的试剂。

3) 试剂瓶(bottle)：有不同的形状、大小及规格。如 COBAS MIRA PLUS 仅有 4、10、15、35ml 等规格，瓶底呈凹形；OLYMPUS AU600 仅有 30 和 60ml 两种；日立 7060 仅有 20、50、100ml 等三种规格。应根据工作量和试剂规格，考虑试剂瓶残留死体积和更换频率，合理选用。独特设计的卡式试剂盒，体积小，防蒸发，便于储存。

4) 配套试剂常有条形码，仪器有条形码检查系统，可对试剂的种类、批号、存量、有效期和校准曲线等资料进行核对校验，如 Beckman CX7 等。

5) 试剂瓶盖自动开关系统：更有利于试剂的保存，有的仪器可在运行中添加、更换试剂，有的则须在暂停状态下进行。

(3) 条形码(barcode)识读系统：一般由扫描系统、信号整形和译码器三部分组成。扫描系统以光源扫描黑条白空相间的条码符号，由于条和空对光的反射不同，不同宽窄

的条码反射光的持续时间不同，产生强度不同的反射光，再经光电转换元件接收并转换成相应强度的电信号，最后通过信号整形由译码器解译。系统自动识别样品架及样品编号，识别试剂、校准品及其批号、失效期，有的还可识别校验校准曲线等信息。

实验室常用的条形码类型有 CODE 39、CODE 128、2 of 5 Standard、Interleaved 2 of 5 等等。要自编样品条形码需准备条码输入器，条形码阅读系统与条形码要匹配，已有全自动试管分配暨条码粘贴准备系统。

(4) 反应系统：

1) 反应盘：装载一系列反应比色杯(cuvettes)，多为转盘形式。反应测定过程中按固定程序，在加样臂、加液臂、搅拌棒、光路和清洗装置之间转动。有的仪器在反应杯中完成反应后再吸入比色杯比色，现在更常见反应和检测同在比色杯中进行，效率更高，尤其适用于连续监测法。比色杯多采用硬质石英玻璃、硬质玻璃、无紫外光吸收的丙烯酸塑料等，使用寿命不一。Dimension 系列的比色杯在机器内自动制造，自动封口，免冲洗，无污染。流动池式主要在小型分析仪上用。容积一般为几十微升，但抽液管道占用较多反应液，多样品连续使用增加了交叉污染机会。

2) 蠕动泵(pump)：半自动生化仪需要蠕动泵抽吸反应液进入流动比色池作测定。要求定期对蠕动泵进行校准，即通过吸入定量的水来检验泵的吸液量是否准确。一般均设有泵校准功能。

3) 混合装置(mixing unit)：如采用多头回旋搅拌棒(三头双清洗式搅拌系统)。搅拌棒常具特氟隆不粘涂层，避免液体粘附。

4) 温控装置：一般可设置 25℃、30℃ 和 37℃，也常见只设 37℃ 的。温差应小于 $\pm 0.1^\circ\text{C}$ 。温控方式有恒温水浴、石蜡油浴、电热恒温、空气恒温、恒温液循环加热等，各具特点。后者采用热容量高、蓄热能力强、无腐蚀性的液体作恒温液，据称集干式空气浴和水浴的优点，使恒温均匀稳定。

(5) 清洗(wash)系统：探针和搅拌棒采用激流式等方式自动冲洗。反应比色杯的清洗常包括清洁液清洗、去离子水冲洗、抽吸、风干等步骤。冲洗水的水温自动控制到与恒温反应槽的温度相近，保证反应系统的恒温，并增加去污能力。急诊测定后采用针对性清洗，似乎比采用固定的全面清洗程序更有效率、更经济。耗水量仪器间的相差较大。

Abbott AEROSSETM 自动生化分析仪等系统具有自动清洗功能(smart wash)和最佳标本顺序选择功能(OSS)。即仪器根据试剂或样品间交叉污染的项目组合，自动改变检测顺序，避免互有影响的分析项目；确实无法回避时，则采用选定的特殊清洗剂作自动清洗。

(6) 光路检测系统：一台性能稳定、灵敏、高精确度的生化分析仪必须具有强度适宜、稳定耐用的光源灯，波长准确、有效防止杂散光干扰的单色光器，和灵敏稳定的光电转换元件以及其他电路元件。

1) 光源灯(photometer lamp)：常用氙灯、卤素钨灯、卤素石英灯等。闪烁式氙灯可延长灯泡寿命。

2) 单色光器：干涉滤光片，一般带宽 6nm ~ 10nm。个别波长的干涉滤光片易发生

霉变。光栅分光式，一般带宽 $< 6\text{nm}$ 。无像差凹面蚀刻光栅，1 毫米内刻线 4000 条以上，缩小了体积，减少了杂散光，提高了精度。集束式全息光栅分光全数码转换的分光技术，波长范围更宽、更稳定。

3) 光电转换元件：现在多采用光敏二极管矩阵。多波长直排式光电管，可对每一项光化学反应同时作多波长分析。集束式光路、光路系统数码处理技术与数字光纤传输检测信号联用，大大减少了各种干扰，提高了检测精度和速度，有利于实现超微量检测。

(7) 程序控制系统：利用现代电子工程学、计算机科学和自动化技术的迅速发展，使生化分析仪的取样、加样、试剂分配、混合、加温、检测以及过程监控、数据处理和输出等一系列程序的自动控制更加完善。

程序控制器是系统的硬件部分，它主要包括：

1) 微处理器和主机电脑：用于仪器各个单元和总体的控制，应具有程控操作、故障诊断、多种数据处理和储存等强大功能。一般根据仪器功能的需要和电脑硬件市场的主流产品来配置。

2) 显示器(CRT monitor unit)：通常用键盘、鼠标、触摸屏等方式进行操作。

3) 系统及配套软件：多采用 Windows-NT 或 Windows 界面，具全图形化设计，多菜单选择，信息导引，故障报警，帮助提示，人机“对话”方便直观，不少仪器有即时反应曲线显示。

4) 通过 RS232C 等数据接口与其他计算机、打印机等设备传输数据。具人工智能双向通讯系统(host query)时，仪器可直接自行向主电脑询问病人/样品的基本资料及检测项目。有的具远程通讯及监控功能，可遥控远处测试及维修检查，实现网络工作。

自动生化分析仪均采用程序控制的自动分析。分析程序一经确定，工作时只要简单地输入测定项目或编码，仪器即可按编制程序自动完成测定、计算和报告。具体的控制程序因仪器而异，一般分为固定程序和自编程序两种。固定程序为仪器厂家预先设定，常与指定试剂配套，有的不能更改，有的也可由用户修改。它与配套试剂一同使用时，既方便工作，质量也比较可靠，但成本较高。自编程序灵活实用，便于开发新项目，强调程序的灵活性。比如，成批测定过程中应可随时插入急诊标本测定而不打乱原有程序；单个急诊标本测定操作简捷、消耗少；可灵活预稀释或重复测定，等等。

(二) 仪器一般工作流程

生化分析仪的正确应用只是掌握了测定技术原理还不够，还需要对具体仪器的工作流程及测定计算方法有足够了解。

1. 一般工作流程 工作流程可以通过仪器的测定周期来考察。重点关注比色杯空白读数点(C_B)、加样品点(S)、各试剂加液点(R_1 、 R_2 、 $\dots$)、试剂空白读数点(R_B)、各测定读数点(P)、各点时间间隔及周期总时间等。每个仪器一般都在反应转盘的固定位置和反应测定周期的固定时间设置样品、试剂和稀释的加液位，以及

测定读数点。如 HITACHI 7170 在 P_1 至 P_{34} 周期为 10 分钟时： P_0 前加样品， R_1 在 P_1 前， R_2 在 P_5 和 P_6 间， R_3 在 P_{16} 和 P_{17} 间， R_4 在 P_{33} 和 P_{34} 间（图 3-4）。OLYMPUS AU600 测定过程见图 3-5。

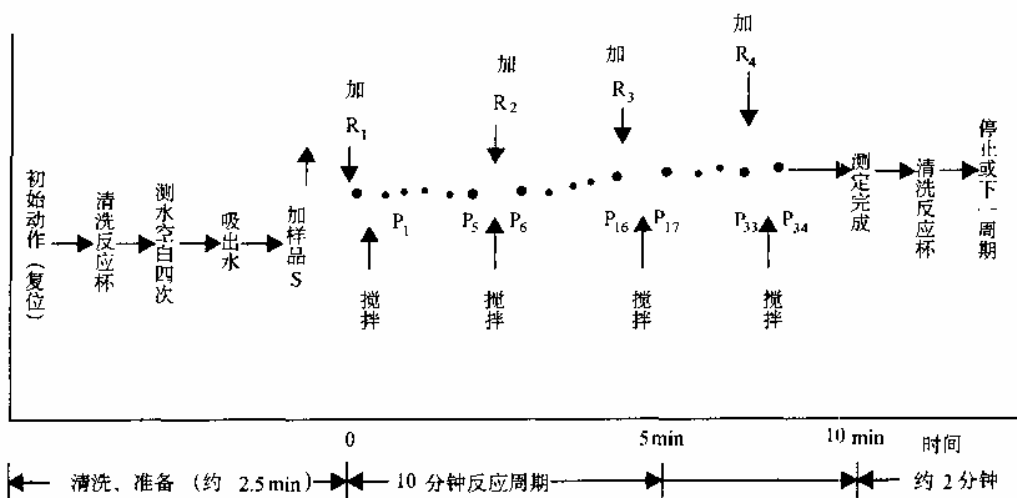


图 3-4 HITACHI 7170 工作流程示意图

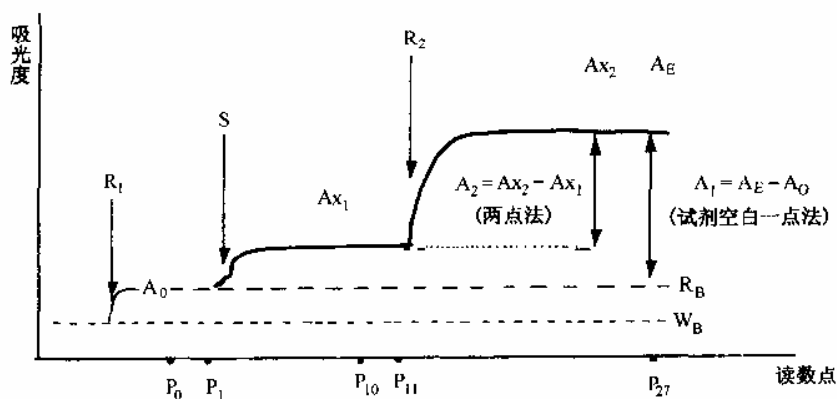


图 3-5 OLYMPUS AU600 测定过程示意图

2. 数据处理计算方法 仪器在各个吸光度读数点读取的吸光度数据，并不一定都纳入浓度计算。仪器往往根据仪器定义和操作者设定的要求，对吸光度原始数据作计算处理，转换成所谓的反应数据，再按系数或公式作浓度计算。举例如下：

(1) HITACHI 7170 的终点法：测定点(A_x)吸光度计算为 $(A_x + A_{x-1})/2$ ，实际吸光度 = 吸光度数据 $\times 10000$ 。

(2) OLYMPUS AU600 试剂空白数据： P_0 点试剂空白(R_B) = P_0 点吸光度 - 比色杯水空白(W_B)；任一测定点试剂空白(R_{BX}) = 该点吸光度 - 比色杯水空白(W_B)。

(3) Monarch 1000 两点终点法的反应数据 = (终点测定吸光度 - 终点空白吸光度) -

(始点测定吸光度 - 始点空白吸光度)。

(4) AU600 终点法(带试剂空白, END 法)的反应数据 = 终点吸光度 - P_0 点吸光度(试剂空白, R_B)。终点法(不带试剂空白, END1 法)的反应数据 = 终点吸光度 - 比色杯空白(W_B)。

(5) AU600 两点法(自身空白)的反应数据 = (加第二试剂后测定点读数 - P_0 点读数) - (加第二试剂前测定点读数 - P_0 点读数)。

(三) 主要操作程序

1. 仪器运行前操作程序 主要进行仪器的基本设置。

(1) 试验项目设置: 对试验名称、编码、试验组合(profile)、试验轮次(round)、必要时包括试验顺序等设置。

(2) 各试验的参数设置: 包括试验间比值、结果核对等参数的设定。

(3) 试剂设置: 根据有关试验参数设置各试验的试剂位、试剂瓶规格, 必要时设定试剂批号、失效期等。

(4) 校准品设置: 对校准品的位置、浓度和数量等进行设置。

(5) 质控设置: 根据质控要求设置质控物个数、质控规则、质控项目及相应质控参数等。

(6) 样品管设置: 包括样品管的类型、残留液高度(死体积)、识别方式等设置。

(7) 其他设置: 对数据传输方式、结果报告格式、复查方式及复查标准等设置。

2. 常规操作程序 开机(预热、保养)→设置开始条件(日期时间索引、轮次、样品起始号等)→根据需要申请校准、质控和病人测定项目(包括架号、杯号或顺序号, 测定中可继续申请)→装载校准品、质控物和病人标本→装载试剂→核对仪器起始状态(未应用条码系统采用顺序识别样品时, 尤其要核对测定起始编号是否与样品架号和申请号相符)→定标和质控测定→检查定标和质控结果→病人标本测定→测定过程监控(试剂检查、观察分析结果、编辑校正)→数据传递(打印报告、向检验管理系统传输工作量统计、财务统计、病人情况追踪、质控分析, 等等)→测定后保养。

3. 测定结果的检查分析

(1) 要了解和熟悉仪器的各种警示符号的含义与作用: 在正确设定参数的前提下, 利用各种警示符号能提高我们发现问题和解决问题的效率。

(2) 要熟悉和灵活运用仪器的相关操作屏(界面): 如用反应过程监测(reaction monitor)观察反应时间进程曲线; 用校准追踪(calibration trace)回顾分析校准曲线; 利用统计(statistics)了解不同日期段病人测定均值及数据分布; 运用分析数据编辑(data edit)查看和校正测定数据。

(3) 校准的检查: 要充分利用仪器设置的功能, 监测校准曲线图形、各校准点吸光度值(不能忽略试剂空白值及空白速率值), 计算 K 值等的波动情况, 以及与以往的比较。必要时应进一步检查反应时间进程曲线。必须结合质控数据来把握实验条件。

(4) 病人结果的检查: 除了目测观察或用血清指数了解标本性状、注意和了解临床资料及诊断外, 学会分析反应时间进程曲线及数据是重要的基本功。

(四) 基本测定方法

1. 终点法(end point method) 根据反应达到平衡时反应产物的吸收光谱特征及其吸光度大小,对物质进行定量分析的方法。对一般化学反应来说,反应完全(或正、逆反应动态平衡)、反应产物稳定时为反应终点。对抗原-抗体反应来说,是抗原和抗体完全反应、形成最大且稳定的免疫复合物时为终点。在反应时间进程曲线上为与 X 轴平行的区段。在测定计算方式上,一般分为一点法和两点法两种。

(1) 一点法(one point):以试剂和样品混合之前的空气空白(GB)、水空白(WB)或试剂空白(RB)的吸光度值为测定计算基点,以反应终点的吸光度读数减去空白读数,得到反应吸光度。通过与相同条件下校准液反应吸光度的比较,求得测定结果。常与一点校准法配合使用,即采用一个校准浓度,校准曲线通过零点且成线性。也应用多点校准。

(2) 两点终点法(two point end):即终点-始点法。以试剂和样品混合之后的某一时间点作为始点,以反应终点的吸光度读数减去始点读数。一定条件下可降低样品对反应或反应本身的非特异性干扰(主要指色度干扰)。常采用双试剂,多以加 R₂ 前某一点作为测定始点;某些情况下,也可以加 R₂ 后一点作为测定始点。若使用单试剂,主反应启动太快或仪器起始读数点受限时难以运用。

固定时间法(fixed method) 与两点终点法的区别只是在:测定读数的末点不在反应平衡区段,而是根据方法学选择,如血清肌酐(苦味酸法)测定。

(3) 三点终点法:即双终点法,在一个通道内一次进行两项反应相关的终点法测定,比如同时测游离脂肪酸和甘油三酯。某些仪器(如 HITACHI 系列)设置此方法。

2. 连续监测法(continuous monitoring method) 又称速率法(rate assay)。即连续监测反应过程,根据所测定的产物生成或底物消耗的速度进行定量分析的方法。在反应时间进程曲线上为反应呈恒速区段(斜率保持不变),常用于酶活性线性反应期测定。

(1) 连续监测法:即零级反应速率法,亦称斜率法。在较长的反应时间区段内(至少 90~120 秒),每隔一定时间(常为 2~30 秒)读取一次吸光度值,至少读取 4 点,得到 3 个 ΔA ;一般将连续多次读数作最小二乘法处理,读数间隔时间太短的作带速率时间(TR)多点法处理,均取线性反应部分的读数,求出单位时间内的反应速率 $\Delta A/\text{min}$ 。此法必须以零级反应为测定计算的基础,因为只有在零级反应下,单位时间内的吸光度变化(反应速率 $\Delta A/\text{min}$)才与酶活力呈正比。此法相对减少了分析误差,大大提高了分析速度和准确性。但是,半自动生化分析仪采用单样品连续监测,相当耗时。

应用连续监测法,首先应准备线性范围内的高、中、低浓度的样品,分别作反应时间进程曲线,了解不同浓度下反应的全过程,兼顾确定延迟时间和线性监测期。

(2) 两点速率法:即所谓的拟一级速率法。在反应中选取两时间点 t_1 、 t_2 ,读取吸光度 A_1 、 A_2 ,计算 $(A_2 - A_1)/(t_2 - t_1) = \Delta A/\Delta t$ 。此方法与两点终点法的区别主要有两点:后一读数点反应未达终点,以速率计算结果。与连续监测法比较,其缺点在于人为确定 t_1 、 t_2 ,不定因素较多,不能保证反应在 $t_1 \sim t_2$ 期间呈线性,影响结果的准确性。应在常规测定前先做预试验来确定线性时间段;若在选择的时间段内反应不成线性(如

零级反应期短,仪器无法设置或测定),则只能改用终点法。优点在于方法简单,酶活力较低,测定吸光度值较小时,可增加测定时间段而不受仪器连续监测时间点的局限,减小了读数误差。

(3) 速率B法:在一个通道内一次进行两项反应相关的速率法测定。它既可以是两项试验测定,也可用于干扰或/及样品空白自动补偿。后一用途的原理是:利用仪器的微机自动处理,在第一反应(干扰反应)一直维持线性的前提下,可以从第二反应(主反应)速率中扣除第一反应速率的延续影响。如可用于消除胆红素转化为胆绿素后吸光度下降、对肌酐苦味酸法测定的负干扰,等等。某些仪器(如 HITACHI 系列)设置此方法。

3. 空白(blank)校正 在分光光度法中,常利用空白溶液来调节仪器的吸光度零点,或用来抵消某些测定的干扰因素。在生化分析仪测定中,除了采用双或多波长、两点法等排除背景干扰外,常要运用专门空白测定,以便从样品测定吸光度中扣除其影响。正确选择空白校正,对提高准确度起着重要作用。

(1) 试剂空白:一般在方法类型和校准模式中,即分为有或无试剂空白两大类。试剂空白单独测定或与校准配合测定,并需预先装载去离子水样品杯或试剂空白架。校准或病人样品各测定点的吸光度,均要扣除相应测定点的试剂空白吸光度或空白速率值。无试剂空白的方法,多直接以反应杯的水空白作为测定基准值。

在不少仪器中,试剂空白测定类似校准测定,并非在病人样品测定时实时测定。所以,要注意它的测定频率,避免因试剂批号或质量变化造成试剂空白的改变而引起计算误差。

(2) 样品空白:主要为了消除样品本身混浊或色度的干扰。常采用空白通道法,测定校正结果 = 显色反应通道结果 - 空白通道结果。多数仪器须另外占用测定通道,分析速度减半,但去干扰的准确性应高于两点终点法。

三、自动生化分析仪的基本参数及应用

了解生化分析仪基本参数的原理,有利于仪器、试剂的正确使用,有助于正确分析和处理测定数据。但是,配套系统的原装分析参数不宜更改;采用非仪器配套的试剂及校准品体系时,参数修改要慎重。对于不同仪器、不同类型的反应分析程序,所显示的人机对话分析参数的信息有所不同。

(一) 反应监测时间

多数全自动生化分析仪可以在整个测定反应周期内连续监测(如 HITACHI 7170 常规测定周期 10 分钟,监测 34 点,OLYMPUS AU600 固定周期 8 分 15 秒,监测 27 点),但反应监测时间是指该时间内的测定读数要用于结果计算。它的设置与加样点、加试剂点(包括 R_1 、 R_2 ……)、监测时间(读数点)、读数间隔时间及试剂样品比例等有关,要结合方法学兼顾权衡。

1. 反应时间(reaction time) 指仪器的一个分析周期中,试剂和样品混合到最末一点测定读数的时间。它对终点法尤其重要,是终点法的瓶颈。有的仪器有多个反应时间可选(如 HITACHI 7170),须预先选定。多数仪器为 10 分钟左右,这对试剂提出了较高

要求。不少终点法试剂(尤其手工法试剂)反应时间常常也在 10 分钟左右,测定时间没有余地,当样品浓度高或试剂质量下降时,均可致测定结果偏低。因此,终点法不宜采用标明反应时间接近和长于仪器最大反应时间的试剂盒。不得已时必须用接近测定范围上限的高浓度质控血清监测。

2. 监测时间(读数点)和读数间隔时间 各类型仪器不尽一致。离心式生化仪读数间隔时间短,监测时间也短。流动式生化仪读数间隔时间一般较长。分立式生化仪一般监测时间 10 分钟左右,间隔 10~30 秒读数一次。有的仪器在整个测定反应周期全程读数,有的只读取指定时间(点)的吸光度。

3. 加试剂点 采用双试剂时,加 R_2 点决定 R_1 与样品的反应时间,也决定 R_2 与 R_1 及样品的反应时间。一般仪器各 5 分钟左右。HITACHI 7170 有四个加试剂点,若采用双试剂,各 5 分钟,则加 R_2 设在第 3 加试剂点。

4. 反应监测时间还要考虑延迟时间的长短、测定物质的浓度范围及相关临床价值、工作效率等因素。

(二) 延迟时间

延迟时间(delay time)是指试剂与样品混合后到监测开始之间的时间。一般用于两点法和速率法,某些情况下也用于终点法。终点法应选择反应趋于平衡的时间(稳定期或平衡期)作测定,测定点前即所谓的孵育期。速率法的线性反应期之前即延迟期。正确选择延迟时间的长短,有利于准确测定,减少试验误差。设置一般根据试剂盒的说明书,还应考虑本室的仪器特点和工作程序。

1. 仪器特点 比如,半自动生化仪多为流动比色池,要考虑泵速、进样管长短、反应液粘稠度及混合情况,以及室温、反应液温度同反应要求温度间的温差,等等。全自动生化仪的测定读数设置方式不同,直接以“秒”设置,或以测定点设置,测定点间隔时间不一样,需要灵活掌握。

2. 试剂及方法学

(1) 试剂组成:在酶活性的连续监测法时,若试剂含工具酶数量多、偶联反应多,则激活反应时间一般较长,延迟时间也较长,如肌酸激酶(NAC 法)延迟时间常设置 120~180 秒;若试剂中底物经待测酶催化,其产物可以直接测定的,则延迟时间较短,如 γ -谷氨酰转移酶(GGT)设定 30~60 秒。同一项目同一方法,但试剂配方不同,其反应快慢等特征也可能不同,如白蛋白测定。白蛋白与溴甲酚绿(BCG)为即时反应,10 秒钟内已完成,其后 α 、 β 球蛋白等也将与 BCG 发生反应,所以孵育时间不能延长。但在同一测定时间,BCG 浓度、缓冲液种类、pH 和表面活性剂不同的试剂,测定结果可能差异明显。

(2) 样品异常成分干扰:有的试验项目需要用工具酶将内源性代谢产物耗尽,比如丙氨酸氨基转移酶活性测定试剂中须有足量的乳酸脱氢酶(LDH)。如果使用单试剂,正常血清样品延迟时间 60 秒即可;但当内源性酮酸增多(如酮症酸中毒)时,试剂内 LDH 常常不能在 60 秒内完全将其清除,剩余酮酸会进入监测期干扰测定,使测定结果偏高,所以延迟时间应增至 90~120 秒。采用双试剂,则可在加入 R_1 后即进入预孵育期。

(3) 方法学要求: 比如肌酐(Jaffe 氏法)测定的特异性不强, 一般认为反应前 20 秒左右为乙酰乙酸等快反应干扰物呈色, 后约 80 ~ 100 秒为蛋白质等慢反应假肌酐呈色, 20 ~ 60 秒肌酐呈色反应占主导地位。采用两点法或速率法可减少干扰, 但具体取多长的延迟时间, 应根据试剂和仪器读数特点, 以干扰实验等方法来评价决定。

3. 工作程序 要在保证准确性的前提下, 合理设置参数, 提高工作效率。最突出的例子是半自动生化仪上酶活性连续监测法的延迟时间设定。由于只能单份样品逐一测定, 若延迟时间全部设置在仪器内, 每个延迟时间加监测时间至少 1 分钟以上, 守候时间较长。工作量较大时, 可以根据仪器控温、加样及读数和试剂特点以及室温情况, 将延迟时间挪一部分到机外, 套式操作, 但要确保机内延迟时间末需进入线性反应期。

4. 要兼顾延迟时间和监测时间 反应时间是有限制的。在速率法和两点法中, 延长延迟时间必然缩短线性监测期, 减小测定的线性范围, 也易发生底物耗尽。

(三) 样品量、试剂量与稀释量

有关参数包括样品量、试剂量、稀释(水)量、最小反应体积和最大比色杯容量等。如 HITACHI 7170 反应体积 180 ~ 380 μ l, 最大体积 570 μ l。BT224 半自动生化仪流动比色池容积 33 μ l, 吸液量 200 ~ 990 μ l, 最适体积 500 μ l。

1. 最小反应体积 在仪器光度读数要用于结果计算时, 反应液液面高度不低于光度计光径的最小体积。它保证仪器的正确读数和计算, 也是仪器测定精度和经济性的指针之一。在有的仪器中, 它以反应体积的下限表示, 有的则专门标明最小反应体积。在单试剂测定中, 样品与试剂的总体积不得少于此参数。在双试剂测定中, 若 R_1 与样品的反应读数不纳入结果计算, R_1 的加液量可不考虑此参数, 如连续监测法; 否则应考虑它对结果的影响, 如终点法在加 R_2 之前读数, 并以此来扣除试剂或样品空白时。

在半自动生化仪中, 最适吸入量相当于最小反应体积。它与进液管道长度、流动比色池容积、吸液泵抽吸力大小和液体粘稠度有关, 它要保证光度检测不受空泡和前后样品携带污染的干扰。因此, 吸入体积不能任意降低, 必要时应加大反应液量和吸入量。

2. 最大比色杯容量 这个参数含义明确。在有的仪器中, 它以反应体积的上限表示, 有的则专门标明最大比色杯容量。反应液超过此体积, 将致液体外溢, 仪器测定系统被污损。

3. 样品试剂比例 样品与试剂的比例(SV:RV), 也可表示为样品体积分数—样品体积与反应液总体积的比值(SV/TV), 是方法学基本参数。酶活力测定中, 样品在总体积中的比例应在 10% 以下。一般说来, 待测物质在样品中含量低的、生理波动范围大的, 样品用量较大。如 Trinder 反应测定血清葡萄糖、胆固醇等, 样品试剂比例多为 1:100, 测定尿酸或高密度脂蛋白胆固醇, 常增加为 1:50; ALT 和 AST 的样品试剂比例多为 1:10 至 1:20。方法灵敏、吸光度高的实验方法, 样品试剂比例小, 如白蛋白 BCG 法, 样品试剂比例常为 1:200。肌酐 Jaffe 氏法监测时间短, 吸光度值较低, 样品试剂比例多为 1:10。一般应以试剂说明为准, 不宜轻易改动。

(1) 改动样品试剂比例, 影响一系列方法学参数。若比例增大, 则线性范围缩小, 线性反应时间缩短, 样品内源性干扰、基质效应增加, 旁路反应会增强, 方法特异性也

下降。若比例减小,检测信号偏低,信噪比(噪音/信号)增大,当仪器精度不高时,会加大测量误差。

(2) 改动样品试剂比例,对某些反应有影响。如碱性磷酸酶(ALP),有文献报道:当样品试剂比例从1:25降至1:50时,酶活力测定值增加,再低于1:50时不再增加,这一效应可能是较高稀释度下ALP多聚体解聚的结果。体液样品稀释也可能对测定结果产生影响。

1) 大多数蛋白质在浓溶液中的分子构象比稀溶液中稳定,样品稀释可影响酶的稳定性。

2) 降低样品中内源性抑制剂或激动剂的浓度,如以蒸馏水稀释血清,可能因降低血清中淀粉酶的激动剂氯离子的浓度,致测定淀粉酶结果偏低;随血清稀释倍数增加,肌酸激酶测定活力增加,可能与降低样品中AMP、胱氨酸等内源性抑制剂有关。

(3) 双试剂时要兼顾 R_1 、 R_2 和样品三者的比例,尤其不宜改动试剂间的比例。 R_2 要考虑仪器规定的加液最小体积、同一试剂瓶死体积下分液量小而浪费大的经济问题等。

4. 稀释(水)量 在加样或加试剂时,加入去离子水或可以指定的液体。它的主要用途有两个,一是用于浓缩试剂的稀释或样品、校准品的稀释;二是在样品加量小的时候用来冲洗样品探针,减小携带误差,但用量不宜太多,以免稀释试剂影响反应。要把稀释水量纳入样品试剂比例和反应液总体积考虑,必要时,干粉试剂复溶也要考虑此因素。

(四) 试剂空白监测参数

无样品或以水代替样品在反应过程中观察试剂空白(reagent blank)值或其变化情况,主要用于监测试剂质量及仪器稳定性。利用试剂空白对试剂本身或反应漂移引起的误差进行补偿,用以校正 ΔA 或 $\Delta A/\text{min}$ 。它与测定波长、光径大小、不同试剂及配方和样品试剂比例等有关,不能盲目套用,必要时宜实际测定。

1. 试剂吸光度上限和下限 定点监测试剂的吸光度。它常用规定波长及光径下的吸光度值表示。仪器的试剂空白检测点因仪器和测定方法的不同而有差异。终点法常在 P_0 点读数,连续监测法常以反应监测起始点来判读。仪器在试剂空白检测及相关的校准测定时,若监测到超过此参数的限值,则提示试剂失效或校准无效。反应吸光度向上的试验取上限值:如Trinder反应以酚或2-羟-3,5-二氯苯磺酸等和4-氨基安替比林作用,生成红色色素,试剂有一定的自发氧化,其试剂一般要求试剂吸光度上限 $\leq (0.1 \sim 0.4)$ 。以结合型硝基苯衍生物作为底物的ALP和GGT常要求 $\leq (0.6 \sim 0.3)$ 。反应吸光度向下的试验取下限值,如以NADH或NADPH为辅酶的ALT和Urea(紫外法)等试验,一般要求试剂吸光度下限 ≥ 1.0 。

2. 试剂空白速率 顾名思义,它是在反应过程中对试剂空白的变化速率作连续监测,其数值在样品测定结果中自动扣除。试剂中可能混有的其他杂酶或干扰物对试剂空白速率有影响。在酶促反应中,试剂空白速率也是试剂在监测过程中底物自发降解的结果。底物为还原型辅酶者,本身不稳定而分解,多呈下降趋势;以硝基苯酚或苯胺的衍

生物作底物，在碱性环境中自发水解成被测物质，多呈上升趋势。此参数主要用于连续监测法。一般认为酶活性测定的试剂空白速率($\Delta A/\text{min}$)应 $\leq (0.001 \sim 0.003)$ 。由于试剂空白速率与仪器检测下限、正常参考范围下限等指标有关，有时也以浓度单位表示。要根据K值、仪器稳定性、方法允许变异而定。例如ALT或AST40U/L以下活力浓度的分析误差应 $\leq 10\%$ ，其试剂空白速率应 $\leq 4.0\text{U/L}$ 。一些仪器的程序参数中没有此参数，但我们应在试剂空白的测定资料中关注它，若资料波动大，须查找试剂或仪器原因。

3. 试剂空白的日常监测 测定方法设置了试剂空白的项目，都要先行作试剂空白测定，在样品测定计算中自动扣除。由于试剂空白不是在每一个样品测定中实时测定并扣除，当样品测定中试剂的变化在未达到参数设置限值时不易发现，试剂空白扣除会产生误差。所以，应根据试剂的稳定性确定试剂空白及相关的校准测定频率。连续监测法的试剂应每天(尤其在换另瓶或另批号试剂时)常规测定此参数。对样品的异常结果，也应及时对其测定吸光度资料(包括与试剂空白有关的资料，例如 P_0 点读数)观察分析。

4. 有的半自动生化仪没有试剂吸光度上限和下限设定，但一般在测定屏幕都显示初始吸光度值，应人工加以判断。酶活力测定结果呈负值，有时可能与试剂空白错误有关。

5. 试剂吸光度上限和下限不是试剂质量的唯一指针。因此，一定的校准频率和室内质控是质量保证的必需手段。我们在实际工作中就遇到酶活力测定的试剂空白数据在规定限值内，但质控物测定结果连续偏低，病人结果因每天标本少而难以判断，最后发现是试剂质量下降。

(五) 波长的选择及测定模式

波长(wave length)的正确选择有利于提高测定的灵敏度和减小测定误差。光度学方法有单波长和双波长之分，有的仪器可用三波长、甚至多波长以及两波长比率等。有的仪器可作导数光谱分析。单波长测定易受样品溶血、黄疸、脂浊等因素干扰。双波长测定可以通过副波长加以修正，减少甚至消除干扰因素，提高测定准确性。采用同光束双波长，亦有利于排除光源强度变化对结果的影响。

1. 测定波长的选择有三个主要条件

(1) 待测物质在该波长下的光吸收最大。

(2) 其吸收峰宜较宽而钝，而不是处于尖峰或陡肩，一般不选光谱中的末端吸收峰；换句话说，该吸收峰处的吸光度随波长变化较小。

(3) 常见干扰物在该波长下的光吸收最小。试剂盒说明一般已提供波长参数。实际波长选择需要了解待测物质和干扰组分对不同波长单色光的吸收程度，即以波长为横坐标、吸光度为纵坐标作吸收光谱曲线(光吸收曲线)。

采用透射免疫比浊法，免疫复合物大小约在35~100nm之间，于波长290~410nm下有最大吸收峰，常取340nm；如用胶乳增强免疫浊度法，理想的检测波长可增至可见光区。

2. 双波长测定 当待测物质与干扰组分的吸收光谱互相重叠、出现非特异光吸收，或因反应液混浊出现光散射时，可以采用双波长(或多波长)测定。双波长测定法的原则

是根据干扰组分和待测物质吸收光谱的峰形特征,选择两个波长 λ_1 和 λ_2 ,使干扰组分在这两个波长处的吸光系数相等,而使待测物质在两波长处的吸光系数有显著差别。以两波长分别测定分析溶液的吸光度,以两个吸光度值之差(ΔA)计算结果。双波长选择常见:血红蛋白在340nm和380nm波长吸光度相同,以NADH或NADPH作为测定底物或产物的试验常采用340/380nm;有的也采用340/405nm。ALP和GGT常使用405/476nm,Trinder反应多选取520/600nm或550/660nm,免疫比浊常选用340/700nm,等等。

连续监测法中,要注意双波长测定有两种类型的机型:主波长全程监测而副波长单点监测,和双波长全程监测。不仅因为后者的准确性优于前者,而且因为酶活性测定的K值计算与波长及摩尔吸光系数有关,更显重要。

副波长单点监测:试剂和样品混合后,双波长只测一点,此后只用主波长连续监测;计算时,全部 λ_+ 吸光度值均减去同一 $\lambda_{副}$ 吸光度值。K值计算代入主波长摩尔吸光系数即可。机型如Monarch 1000、Technicon RA 1000等。

双波长全程监测:全程每一测定点均用双波长同测,并各自用 λ_+ 吸光度值减去 $\lambda_{副}$ 吸光度值。因为所测指示酶或产物在 $\lambda_{副}$ 时也存在一定的吸光系数,K值计算代入的摩尔吸光系数值应采用 ϵ_+ 减去 $\epsilon_{副}$ 。如NADH的 ϵ_{340} 为 6.22×10^3 , ϵ_{380} 为 1.33×10^3 ;ALP产物 ϵ_{405} 为 18.5×10^3 , ϵ_{476} 为 0.2×10^3 ,很小;GGT产物在副波长处无吸光系数。

(六) 非线性监测及判断

线性参数用于监测反应是否呈线性,是重要的测定参数。常用参数主要有非线性监测参数、线性范围和底物耗尽限额参数等。

非线性监测参数是根据仪器对各读数点间变异情况的监测,判断监测期反应是否呈线性的指针。常见的有线性度、均方差或标准差限额、 $\Delta A/\min$ 限额等参数。常见方法是用最小二乘法计算各读数点数据的吸光度速率变异,再以不同指标估计偏差大小。

1. 线性度(linearity) 线性度指吸光度相对于时间变化的可以接受的线性程度,可看作反应线性的偏移程度,其大小应与试验方法本身的精密度匹配。通常将反应监测期内的读数点分段求速率,再进行比较。如OLYMPUS AU600将监测期分为前后两个半段,采用最小二乘法计算各段 $\Delta A/\min$,再以公式: $[\text{前半段 } \Delta A/\min - \text{后半段 } \Delta A/\min] \div [(\text{前半段 } \Delta A/\min + \text{后半段 } \Delta A/\min)/2] \times 100\%$,计算判断是否为非线性(NL)。不同仪器的分段方法和计算方式有所不同。根据仪器特性、方法学特点和试验要求,一般取15%为上限;对 $\Delta A/\min$ 小、反应监测期较短、K值大或反应精密度较低的测定项目,有的设20%~30%为上限。有的仪器由于计算方法或精密度的关系,也有其他设定值,比如Beckman700型线性度一般设为5%。线性度超限提示底物不足,反应异常波动,或仪器异常漂移,测定结果不可靠,仪器予以提示。因酶活力高致超限,一般作2~4倍稀释。

2. $\Delta A/\min$ 限额 即以反应的斜率对线性作判断。高于设定限额常表示酶活力太高,反应不呈线性。它与线性范围(常以报告单位表示)上限相似。

$\Delta A/\min$ 低于某一低限时,亦可能判定非线性或不作线性检查。这有两种可能,一

是样品活性低，二是底物耗尽，反应曲线已趋平坦。这一低限不同的仪器不同。假设 ALT 测定 F 值为 1746，如 HITACHI 生化仪以 $\Delta A/\text{min} \leq 0.006 \text{ Abs}/\text{min}$ 作为不执行线性检查的标准，则相当于酶活性 10.5U/L，高于一般文献报道的正常参考值下限(5~8U/L)，似乎偏高。CI750 仪将此标准设为 2mAU/min，酶活性相当于 3.5U/L，似乎更为恰当。

3. 线性反应区自动搜寻 它属无延迟时间动力学分析，即事先只需设定监测期，无需设置延迟时间。仪器按内置程序，在设置的监测期内，对相继时间间隔间的 $\Delta A/\Delta t$ 不断作比较，自动搜寻出线性反应区，再对区内数据进行线性回归分析，求出 $\Delta A/\text{min}$ ，计算酶活性。不满足程序线性反应条件的，以非线性报警。这样，活性不同的样品其延迟时间可以不同，高活性样品可自动搜寻缩短延迟时间，提高仪器“产出率”。

4. 其他 多点 delta 法：求出各点吸光度差异 $\delta = \Delta A = A_n - A_{n-1}$ ， δ 相等的连续几点呈线性。回归法：对获得的多个数据作回归运算，斜率值过大过小的点非线性。标准误差：检查各 ΔA 的标准误差是否落在线性之内，若超限，则仪器自动舍弃一些测定点再计算结果。

(七) 线性范围

在待测物质的一定浓度范围内，反应的吸光度值与待测物浓度呈线性关系。试剂盒一般提供了线性范围参考值，但主张在本室条件下制作校准曲线，实测线性范围(linear range)，测定浓度值超出设定范围即判定非线性。不光要注意线性范围上限，也要注意下限的设定。设定时应结合方法学(如校准曲线是否有截距、灵敏度和最低检出限)、参考范围(如 ALT 不可能为零值或负值，有临床意义的上下限值)等等。

对于非线性校准曲线的试验，此参数的含义应视为：反应吸光度值与待测物浓度的关系符合规定的函数模式。测定范围是它的广义概念，有的仪器将它称为动态范围(dynamic range)。

(八) 底物耗尽监测及限额

酶活性测定中，当待测样品的酶活性特别高时，往往在延迟反应期内底物就大量消耗，以致在程序规定的线性反应期内几乎监测不到吸光度的变化，无通常的非线性报警，而出现低值结果。底物耗尽(substrate exhaust)是最严重的非线性，通常应将样品稀释 5~10 倍复查。一般适用于连续监测法和两点速率法。

参数设置常采用对起始吸光度的观察，或对反应监测期吸光度值的大小作限制。有的仪器有多种方式提示不同程度的超限，如以反应监测期内未超限数据点的数目以不同方式报警。

1. 最大或最小吸光度限值(Max/Min Abs.Limit) 反应中吸光度增加或下降至设定吸光度值时，即判断为底物耗尽。

(1) 设置的最可靠方法是实测：应根据试验的反应类型选择实验样品的浓度。吸光度向下的，浓度宜为试剂盒规定线性上限的 1~2 倍；吸光度向上的，浓度宜为试剂盒规定线性上限的 2~3 倍。将高浓度样品作系列稀释后，做时间进程曲线。可用三种方法来观察判断。

1) 用肉眼观察反应曲线趋于平行 X 轴的转折点, 该点对应的吸光度值即为最大或最小吸光度限值。由于不同酶活性浓度的反应速率不同, 转折点的高低和弯曲幅度不同, 应对限值进行综合判断, 一般取在反应监测区的转折点。吸光度下降的反应(如 ALT), 此类底物耗尽反应曲线转折点明显, 易于判定; 而吸光度增加的反应(如 GGT), 相应曲线常呈平滑弧线, 转折点不明显。

2) 用直尺连接初始监测点(P_F)及其后呈线性三数据点并延伸, 找出偏离直线的反应曲线点作为直线止点。

3) 计算各相邻数据点间 $\Delta A/\min$ 与 PF 前后呈线性的四数据点平均 $\Delta A/\min$ (此数值近似于最大反应速度) 之间的点相对变异, 如 OLYMPUS AU600 读数点间隔 18 秒, 相邻数据点间 $\Delta A/\min = (P_x - P_{x-1}) \times 60/18$ 。

(2) 无延迟时间(NO LAG TIME): 如 OLYMPUS AU600 规定吸光度限值参数为反应混合物有效吸光度的下限(MIN-OD)或上限(MAX-OD), 超限即判定底物耗尽, 提示 D 或 B, 不显示测定值; 若同时在参数“NO LAG TIME”中设为“Yes”, 则计算点自动向延迟区前移, 寻找出线性区段即可计算结果。此计算结果有一定误差, 必要时应稀释再测定。

在主要的线性参数中, 线性度监测各点间的平均变异情况、着重点间比较是最重要的线性参数。线性范围以监测高低临界浓度值来判定非线性, 试剂盒一般提供了参考值。吸光度限值则监测最大或最小的吸光度极端值, 着重判定底物耗尽及其“假直线”, 后二参数需要实际测算。从这个分工出发, 以直线止点的吸光度来定吸光度限值似乎偏小, 因为其点相对变异在 15% 左右, 与线性度的允许限接近, 样品的色度干扰也增加假报警, 浪费人力物力。吸光度限值偏小, 也限制了“NO LAG TIME”参数的应用。以转折点的吸光度来定吸光度限值、在转折点不明显时(尤其吸光度向上的反应), 判定的主观性较大, 可用算法协助判定。可取点相对变异 30% 的监测点的吸光度值作吸光度限值, 此时底物浓度约为 K_m 值的 2~3 倍。

(3) 吸光度限值推算: 新购仪器或试剂, 当无高值标本, 吸光度限值如何设置? 一是平时工作中留意保存高值和异常标本; 二是利用试剂说明书中的线性上限浓度值或 $\Delta A/\min$ 值, 在试剂样品比例不变的条件下, 计算理论上满足线性监测的限额, 以后再检验修正。

根据连续监测法原理, 只要在终末监测点(P_L) $\Delta A/\min$ 值不超过规定的线性上限, 则反应监测期应为线性反应。设从 P_F 连续监测 P 点达线性上限, 读数间隔时间 18 秒, 则 P_L 点 $MAX - OD = OD \cdot P_F + (\Delta A/\min \times 18 \times P/60)$, 或 $MIN - OD = OD \cdot P_F - (\Delta A/\min \times 18 \times P/60)$ 。其中 P_F 点吸光度值可以实测 RB 值或试剂吸光度上下限值近似代替。如科华 ALT 双试剂, 试剂吸光度下限 1.0, 线性上限 1000U/L, F4080, $\Delta A/\min = 0.245$; 设置 P_F 为 P_{13} , P_L 为 P_{19} , 计算 $MIN - OD = 1.0 - (0.245 \times 18 \times 6/60) = 0.559$ 。而 GGT 试剂吸光度上限 0.7, 线性上限 800U/L, F1421, $\Delta A/\min = 0.563$; 设置 P_F 为 P_{14} , P_L 为 P_{20} , 计算 $MAX - OD = 0.7 + (0.563 \times 18 \times 6/60) = 1.7134$ 。从试剂线性上限计算的 $MIN - OD$ 偏高, $MAX - OD$ 偏低, 可防止漏报底物耗尽, 但可能误报, 要注意判别。

(4) 样品吸光度干扰: 仪器反应曲线图上的吸光度值是直接读数。在设置和分析

时须考虑样品的浊度和色度对反应吸光度的影响，尤其对吸光度限值的影响。采用单试剂单波长时，样品的显色干扰(如 ALT 测定时的严重黄疸或脂浊)可能掩盖吸光度的剧烈下降，导致假阴性。除用双波长排除部分样品干扰外(如用 410/480nm 双波长减小黄疸干扰)，要注意样品空白值和考察 $\Delta A/\text{min}$ 。如 GGT 单波长测定一总胆红素 $766\mu\text{mol/L}$ 的血清标本，提示底物耗尽，无测定结果；经检查其样品空白值已高于设定的 $\text{MAX} - \text{OD}2.16$ ，但据 $\Delta A/\text{min}$ 值计算应为 320U/L ，尚在线性范围内。

(5) 判断底物耗尽的吸光度限值，不要与试剂空白吸光度限值相混淆。

2. 起始吸光度与试剂空白吸光度的差额 两者之差超出限值，即判断为底物耗尽。半自动生化仪作酶活性测定时，要注意试剂空白和样品测定的起始吸光度值，利用上述参数原理对底物耗尽作人工判断。

3. 残余吸光度限值(residual net absorbance) 主副波长末点吸光度差值限额。

(九) 计算因数(K 值)

光度法测定中，需要用计算因数(K 值)将吸光度值转换为浓度值。有三类计算方式。

1. 带校准品的浓度计算

(1) 校准对照法：主要用于单校准品的线性计算。

$$\text{物质浓度} = \text{待测物吸光度} \times K$$

$$K = \text{校准品浓度} / \text{校准品吸光度}$$

(2) 校准曲线法：采用多个校准品，K 值以多个校准品的吸光度与相应浓度间的拟合方程式来表达。详见(十一)校准参数。

带校准品的测定计算方式对试验条件最重要的要求是：校准品的试验条件尽可能与待测样品一致，包括基质组成、待测组分浓度范围、加液量、温度和比色条件等。

2. 吸光系数法 若物质的吸光系数已知，并且在单色光波长及纯度、溶液浓度、酸碱度、温度、光径等测定条件下不致引起对 Beer 定律偏离的情况，利用吸光物质浓度与吸光度的特征定量关系，可直接从测定吸光度计算试样的物质浓度。

$$\text{物质浓度} = \text{待测物吸光度} \times K$$

浓度单位以重量/体积(如 g/L)表示时，常通过分子量和摩尔吸光系数进行转换。

$$K = (\text{MW} \times \text{TV}) / (\epsilon \times L \times \text{SV})$$

TV，反应系统总体积；SV，样品体积；L，光径(cm)； ϵ ，摩尔吸光系数；MW，分子量。

如主要用于新生儿黄疸测定的胆红素直接分光光度法。它利用胆红素在 454nm 波长下有特征吸收峰，通过该波长吸光度直接测定计算胆红素浓度；氧合血红蛋白的干扰利用其在 454nm 和 540nm 的吸光度相等，以双波长进行校正。方法简单、快速。氰化高铁法血红蛋白分光光度定量测定是更常用的试验。

浓度单位以体积摩尔浓度(如 mol/L)表示时，则直接通过摩尔吸光系数进行转换。酶活性浓度计算是它最常用的变化形式。

3. 酶活性浓度计算 酶活性以单位表示，常用酶活性国际单位(U/L)。其单位定义

是：规定条件下，每分钟催化 $1\mu\text{mol/L}$ 底物变化所需要的酶量。计算公式为：

$$\text{酶活性 } U/L = \Delta A/\text{min} \times (TV \times 10^6)/(\epsilon \times L \times SV)$$

$$K \text{ 值} = (TV \times 10^6)/(\epsilon \times L \times SV)$$

TV：反应系统总体积；SV：样品体积；L：光径(cm)； ϵ ：摩尔吸光系数； 10^6 ：将 mol 换算成 μmol 。

连续监测法仪器自动将酶促反应速率以每分钟平均吸光度变化值($\Delta A/\text{min}$)表示；两点速率法要注意 $\Delta A/\Delta t$ 与 $\Delta A/\text{min}$ 的换算。

4. 吸光系数法的影响因素 吸光系数是计算的枢纽。保证吸光物质特征吸光系数定义条件的准确性和稳定性是本方法的基础。

(1) 光径：吸光系数测定光径定义为 1cm。不同仪器的光径常有不同，有的不是 1cm，但在计算时自动校正；有些仪器则未作校正，应注意区别和换算。

(2) 波长精度：采用吸光系数法要求窄光谱、低杂散光，带宽至少在 6nm 内，酶活力测定推荐带宽在 2nm 以下，波长准确性在 $\pm 0.5\text{nm}$ 以内。

(3) 样品体积和反应系统总体积：当仪器和试剂条件固定时，K 值改变取决于 TV/SV。设置参数时若改变了样品与试剂的比例，必须相应修改 K 值。仪器加液系统长期使用或作了更换维修，也应作相应校正。

要设定合理的 TV/SV，尤其在酶促反应中。一般 K 值设在 1000 ~ 4000 范围内比较合适。生化仪吸光度准确读数通常在 0.001，过大的稀释比产生过大的 K 值，导致较大试验误差，这尤其对低值标本结果影响较大，过小则缩小线性范围。

(4) 吸光系数：受温度、pH、介质成分、离子强度等因素影响。

1) 温度对吸光系数的影响：温度对酶活性和某些缓冲液的 pH 都有影响。如 ALP 测定产物对硝基苯酚的吸光度有温度依赖性。在 EAE-HCl 缓冲液(EAE:2-乙基氨基乙醇)条件下，37℃与 30℃时的 $\epsilon_{405\text{nm}}$ 分别为 18800 和 18700。IFCC 要求酶活性测定温度为 $37 \pm 0.05^\circ\text{C}$ 。

2) pH 对吸光系数的影响：同样以对硝基苯酚为例，不同 pH 下 $\epsilon_{405\text{nm}}$ 变化很大：pH > 10， ϵ 为 18500；pH 8.0 时， ϵ 为 16240；pH 7.0 时， ϵ 仅为 9940。

GGT 测定中对硝基苯胺(L- γ -谷氨酰对硝基苯胺产物)的 $\epsilon_{405\text{nm}}$ 一般认为是 9870，但有文献指出，其 ϵ 值和离子强度等测定条件有关。

3) 波长位置对吸光系数的影响：仪器设定的用于 ALP 和 GGT 测定的波长有 410nm、405nm。由于 ALP 和 GGT 的测定波长并非产物的吸收峰波长，而是选用反应前后底物与产物之间的吸光度差最大处的波长；两个波长都在产物的吸收光谱曲线的斜坡上，波长的微小改变可引起吸光度的明显变化。

5. 实测摩尔吸光系数或 K 值 由于吸光系数法、尤其酶活性连续监测法对实验条件要求严格，吸光系数又受多种因素影响，如果不能正确检定认可实验条件，则应该实测 ϵ 或 K 值，以纠正由此造成的系统误差。

实测 ϵ 即利用已知准确浓度的反应指示物，在具体条件下测定其吸光度，并换算成实测 ϵ ；若将实测 ϵ 代入酶活性计算公式，则得到应用 K 值。若 TV/SV 等各种实验条件也与待测项目的条件一致，则得到包括各有关影响因素的实测 K 值。根据朗伯-比尔

定律和酶活性计算公式,

$$\epsilon = (A \times TV \times 10^3) / (C \times L \times SV)$$

$$K \text{ 值} = (C/A) \times 10^3$$

ϵ , 摩尔吸光系数; K 值, 酶活性计算因数; TV, 反应系统总体积; SV, 样品体积; L, 光径(cm); 10^3 , 酶活性单位 μmol 与反应指示物浓度 mmol 换算; A = 反应指示物吸光度(A_s) - 试剂空白吸光度(A_B); C, 反应指示物浓度(mmol/L)。

在实测过程中, 反应指示物应采用经认可的商品标准物, 或按文献的标准品制备方法进行制备。要选取合适的测定浓度, 尤其实测 K 值要求固定 TV/SV 比例、使其与酶活性实测比例一致时, 应让测定吸光度落在仪器的有效读数区域内。为减少测定误差, 要重复测定 3~5 次, 应取多个浓度, 观察变异, 求取均值。

(1) 酶活性测定常用的反应指示物:

1) NADH 或 NADPH 是许多不需氧脱氢酶的辅酶, 是测定这些脱氢酶或者以其作指示工具酶时最常用的监测反应底物或产物。它们在 340nm 波长处有一个吸收峰, 但氧化型没有这个吸收峰。相关测定项目有 ALT、AST、LDH、CK 等。NAD(P)H 因其不稳定, 常用葡萄糖紫外法代替。

葡萄糖紫外法包括己糖激酶(HK)法或葡萄糖激酶(GK)法等。这类方法可产生与葡萄糖等摩尔的 NAD(P)H, 直接用试剂盒测定, 便于换算。以己糖激酶法为例:

例 1 Glu 标准液 5.55mmol/L, SV = 5, RV = 500, $\lambda_{340\text{nm}}(A_s - A_B) = 0.318$, 实测 $\epsilon = (0.318 \times 505 \times 10^3) / (5.55 \times 1 \times 5) = 5.787 \times 10^3$, 实测 K 值 = $(5.55/0.318) \times 10^3 = 1.7453 \times 10^4$ 。

例 2 Glu 标准液 2.775mmol/L, SV = 50, RV = 1000, $\lambda_{340\text{nm}}(A_s - A_B) = 0.764$, 实测 $\epsilon = 5.782 \times 10^3$, 实测 K 值 = 3.632×10^3 。

一些文献报道的 NAD(P)H 实测 ϵ 有: 不同仪器 $\epsilon_{340\text{nm}} 6.331 \times 10^3$ 、 5.942×10^3 、 5.778×10^3 , $\epsilon_{340/405\text{nm}} 5.607 \times 10^3$ 、 $\epsilon_{340/380\text{nm}} 4.685 \times 10^3$; 同一仪器 $\epsilon_{340\text{nm}} 5.81 \times 10^3$ 、 $\epsilon_{340/380\text{nm}} 4.69 \times 10^3$, $\epsilon_{340\text{nm}} 5.969 \times 10^3$ 、 $\epsilon_{340/410\text{nm}} 5.954 \times 10^3$ 、 $\epsilon_{340/380\text{nm}} 4.560 \times 10^3$, 等。

2) 硝基苯衍生物: 如对硝基苯酚、对硝基苯胺和 2-硝基-5-氨基苯甲酸(L- γ -谷氨酰-3-羧-4-硝基苯胺产物)等, 是另一类常用的被监测产物。它们作为底物的结合型化合物均为无色, 而一旦水解或游离型产物在 pH 大于 8 的碱性条件下, 能生成黄色的醌类离子型化合物, 在 400~410nm 有吸收峰, 其吸光度与浓度成正比, 但它们的 ϵ 不是恒定的。

对硝基苯酚、对硝基苯胺等指示物稳定, 可采用商品标准液或化学试剂, 如 Sigma 公司的对硝基苯酚标准液(1.0mmol/L)、对硝基苯胺(固体)试剂, 后者需配成 0.5mmol/L 左右浓度的标准液。以标准液作血清样品, 用相应酶试剂的缓冲液作测定试剂, 终点法实测 ϵ 或 K 值。

a. 对硝基苯酚标准液的配制: 对硝基苯酚(pNP; 亦称 4-硝基苯酚, 4-NP), 分子量 139.1, 用碱滴定法纯度 $99.9 \pm 0.1\%$ 。溶于 10mmol/L NaOH, 25℃ 下, $\epsilon_{401\text{nm}} 18380 \pm 90$, $\epsilon_{405\text{nm}} 18810$, $\epsilon_{432\text{nm}} 9200$ 。

4-NP 标准储存液(1mmol/L): 粗称约 400mg 高纯 4NP 放入 10ml 烧杯中, 放入 50℃

烤箱 24 小时。取出置干燥器 2 小时待凉，含水量 $< 0.1\text{g}/100\text{g}$ 。为防止吸水，尽快称 139.1mg，以蒸馏水稀释至 1000ml，充分混匀。避光保存并防止蒸发，可稳定三个月。

4-NP 标准工作液(0.04mmol/L)：用 A 级容量吸管准确吸取 1mmol/L 4-NP10ml，放入 250ml 容量瓶中，以相应 ALP 测定法的缓冲液稀释至刻度，充分混匀。

注意 4-NP 的吸光度有温度依赖性。上述两液至少应制备两次，每次至少测吸光度三次，各次结果间相差应 $\leq$ 平均值的 1%。

b. 对硝基苯胺标准液的配制：准确称取标准对硝基苯胺 552.5mg，溶于 10ml 浓 HCl 中，加蒸馏水至 1L。进一步用 pH7.6 (37℃) 的三羟甲基氨基甲烷缓冲液作 1:100 稀释，终浓度为 0.04mmol/L。

c. 3-羧-4-硝基苯胺标准液的配制：精确称取纯品 3-羧-4-硝基苯胺(MW = 182.14) 45.5mg，溶于蒸馏水至 250ml，为 1mmol/L 浓度储存液。取其 6ml，用蒸馏水稀释至 100ml，成为终浓度 0.06mmol/L 的标准应用液。

江苏 25 台不同型号仪器，波长 401nm、405nm 或 410nm，平均实测 ϵ 分别为：GGT = 8827，ALP = 18496。其他文献报道的 ϵ 有：ALP (AMP, 30℃) $A = 0.751 \pm 0.002$ 、 $\epsilon_{404\text{nm}} = 18700 \sim 18800$ ，ALP (DEA, pH9.8, 37℃) $\epsilon_{405\text{nm}} = 18600$ ，GGT (3-羧-4-硝基苯胺) $\epsilon_{405\text{nm}} = 9510$ ，等。

(十) 抗原过剩监测

免疫比浊及酶免疫分析均可能发生带现象，常需要作抗原过量的监测。主要用于终点法。

1. 人工判断方法 利用反应体系中抗原和抗体量匹配、反应达到平衡时，抗原抗体复合物最多、吸光度值最大的原理，进行判断。

(1) 免疫比浊时，样品用两种稀释度测定，若高浓度管的浊度不按比例增加或反而下降，可能抗原过剩。

(2) 免疫比浊时，测定后反应液中追加抗体，浊度升高；追加被检样品(抗原)，浊度下降或反应进程曲线变形，可能抗原过剩。

(3) 连续监测抗原抗体反应进程曲线，曲线异常变形，可能抗原过剩。

2. 仪器前带检查(prozone) 应用原理与人工判断方法相似。多在终点法中比较前后两个读数点的吸光度变化，若超出判断限值，表示已有抗原过剩，但不同仪器的实现模式有所不同。前带检查未通过则报警提示，应稀释样品重测。

(1) HITACHI 7170 前带检查：用抗原或抗体再添加方法，一点法在反应终点后加测一点，两点法在两反应测定点间加测两点，根据前后吸光度的变化方向及大小，判断是否出现前带现象。前带限制(prozone limit)参数有：前带吸光度限值、前带读数点、前带比较(高或低)。

以一点终点法的前带检查为例：设反应时间 10 分钟， P_0 点加入试剂 R_1 ，反应终点测定点 P_{16} ，待测物吸光度 $A_X = (A_{P_{16}} + A_{P_{15}})/2$ ，待测物浓度 $C_X = K(A_X - A_B) + C_B$ ，其中 K 为浓度计算因数， A_B 和 C_B 分别是空白吸光度及其浓度。设定前带吸光度限值 1000，

前带读数点 P_{30} ，前带比较为 Lower，在 P_{16} 后加入试剂 R_2 ；前带读数点吸光度 $A_P = (A_{P_{30}} + A_{P_{20}})/2$ ，前带检查值 $P_C = A_P - d \times A_X$ ，其中体积校正系数 $d = (SV + VR_1)/(SV + VR_1 + VR_2)$ ，SV、 VR_1 、 VR_2 分别为样品、试剂 R_1 、 R_2 体积。若 P_C 值低于限值 1000，判断有前带现象，仪器报警；若 P_C 值高于限值，则通过前带检查。

(2) Monarch 2000 前带检测设置：可输入早期、中期或终点抗原过剩计算的选择。首先应确定各期的抗原过剩(%)值并输入仪器，则各期测定中规定的测定点之间的吸光度变化率(%)应小于规定的数值，若大于规定数值则说明抗原过剩。如某项目两点法测定，5s 起始测定(仪器间隔 15s 读一次)，终点 110s；前带检测 80s (第 5 点)与 110s (第 7 点)，两次结果的比值若超出规定的 87% ~ 110%，判为 AE。

(3) 其他仪器：SHIMADZU CL-7200 可设前带检测点，并预输入前带吸光度增/减限值。ABBOTT AEROSSETM 有两项前带检查参数，要求设置对应的吸光度差值(A-B)或吸光度比值(A/B)范围。OLYMPUS AU600 采用一组数据检查参数(包括数个检查点、限制点首点与末点、判断限值等)，超限即显示“&”或“Z”，提示可能发生前带现象。

(十一) 校准参数

校准是一个测试和调整仪器、试剂盒或检验系统，以提供反应和所测物质之间的已知关系的过程。包括校准类型、校准物和校准曲线模式等校准参数(calibration parameters)，参数间互相关联。

1. 校准类型(calibration type) 校准类型主要选择和设定校准物的有无及多少、测定方法及精确度要求，有的仪器此参数涵盖校准计算方式。

(1) OLYMPUS 系列将校准方式分为三大类：1-7MB：由人工输入校准因子，作 1~7 点校准；1-7AB：仪器自动计算因数；AA：使用两个校准物，不作试剂空白。有的仪器把免疫测定校准专门归为一类。

(2) 校准点设置：根据不同的校准需要，选取校准点作测定，常用于检查校准曲线的稳定性。如 HITACHI 系列的空白校准、量程校准、全点校准方式。空白校准：校准零浓度标准 1，对上次校准曲线，根据本次空白吸光度或吸光度变化量，对空白吸光度作部分补偿。量程(span)校准：对标准 1 校准点以外的另一校准点作校准，根据本次吸光度或吸光度变化量，对照上次校准曲线，对斜率作部分补偿。全点校准：对所设定的各浓度标准液的校准点均作校准，校准曲线的参数全部更新。

(3) 校准曲线精确度的限值：常见参数有：标准差限值(SD limit)、双次测定限值(duplicate limit)、灵敏度限值(sensitivity limit)、试剂吸光度偏差(R. Abs. deviation)等。相关参数还有重复测定次数等等。应按照仪器参数定义，根据试验要求和试剂条件等来设定。

(4) 校准间隔时间：即校准频率。设定后，仪器自动定时进行校准。

2. 校准物(calibrator) 根据校准类型及要求，设置校准物的个数、浓度、放置位置、重复测定次数等。为保证校准曲线的准确性，校准物的个数至少比校准曲线的阶次或参数个数多 1 个，推荐多 2 个；应设置零浓度校准物。浓度设置要有高中低值，或者包括医学决定水平的检测范围，其正常值最好落在曲线的直线部分。仪器可作校准物系

列稀释的,可设定稀释液种类和有关稀释参数,方便校准且经济。

3. 校准曲线模式(calibration curve model) 应根据试验资料的性质和实际数据呈现的趋势,正确选择数学模型(即校准曲线模式),使估计误差为最小或接近最小。

(1) 常用的校准曲线模式:主要分线性曲线和非线性曲线两类。

1) 线性曲线:数学方程式: $Y = aX + b$ 。浓度(X)与吸光度(Y)成线性。一个校准点时,曲线必须通过零点($b = 0$);一个以上校准点时,曲线不一定过零点,可有截距($b \neq 0$)。因此,有截距的项目(如硫氰酸汞法测定氯)不能一点定标。线性范围只在定标浓度范围内有效。

2) 多点线性曲线(polygonal line):常用线性逐点内插法,即以线性计算公式,用分段插值方式计算每两个校准点间的最适曲线。校准点须 ≥ 2 。适用性广,但用于曲线误差较大,适宜用作未找到更佳拟合曲线前的暂用模式。

3) 二次方程曲线:数学方程式: $Y = aX^2 + bX + c$, $X = aY^2 + bY + c$ 。曲线呈抛物线,有一个极大值或极小值的拐点,变化趋势随之反向。校准点须 ≥ 4 (校准点应比方程次数多2以上)。

4) 三次多项式曲线:常见数学方程式: $Y = aX^3 + bX^2 + cX + d$ 。曲线呈双抛物线或多峰形。医学实验中常呈不典型的“消退型”,有一凹一凸的拐点,类似S形;有的Y变量随X自变量增加而增加,有的Y随X增加而减少。校准点须 ≥ 5 。是免疫比浊法常用的曲线。

5) logit 变换和 logistic 函数:仪器设置的类似模式有:TOSHIBA 系列的 Logit-4、Logit-5;HITACHI 系列的 Logit-Log4P、Logit-Log5P;OLYMPUS 系列的 EIA TYPE1、EIA TYPE2 等。校准点数应比参数的数日多2。

常用于S形曲线。典型 logistic 曲线呈拉长的S形,上下两端各有一渐近线平行于X轴,在上升型曲线中,X与Y变量的关系始终为正;在下降型曲线中,X与Y变量的关系始终为负。此模式模拟了免疫反应的物理特征:随浓度增加,抗体逐渐饱和,反应近极限。四参数方程常见模型是: $Y = Kc / (1 + \exp[-(a + b \ln X)]) + R_0$ 。Y是吸光度,X是浓度或剂量,含Kc、 R_0 、a和b四个参数。四参数适用于一般平衡型的免疫反应测定。非平衡系统呈不对称曲线,宜增加参数,采用五参数曲线等。是酶联免疫法常用的曲线。

6) 对数曲线(logarithmic curve)或指数曲线(exponential curve):仪器设置的类似模式有:TOSHIBA 系列的幂函数、HITACHI 系列的指数法、OLYMPUS 系列的 EIA TYPE3,等。

适用曲线为变化趋势始终上升或始终下降、数据点分散的曲线形式。如有一条与X轴平行的渐近线的指数曲线(相应方程Y取对数),有一条与Y轴平行的渐近线的指数曲线(相应方程X取对数),有分别与X和Y轴平行的两条渐近线的双曲线(方程两端取对数)。常见模型是: $Y = Kc \times \exp[a \ln X + b (\ln X)^2 + c (\ln X)^3] + R_0$ 。

7) 其他:如样条函数法(spline function)、同工酶P法和同工酶Q法等。

(2) 校准曲线的选择和拟合效果检验:选择何种校准曲线作数据处理,是试验成功的关键之一。除应用试剂厂商提供的或文献介绍的校准模式外,应做三方面工作:

1) 结合绘图法, 根据资料特征作散点图了解数据趋势, 初步确定曲线类型。要注意浓度对变量关系及曲线形状的影响。

2) 对拟合曲线作检验和比较, 考察曲线效果。实际校准点与通过给定计算方式建立的校准曲线的拟合程度, 可以用不同的方式定量表示: 采用最小二乘法, 计算估计误差平方和 $\sum(Y - \hat{Y})^2$, 其值应小。计算相关系数 r 及其平方 R^2 , R^2 可直观地表示为回归平方和与离均差平方和的比值, 越近 1 越好。必要时作 F 检验。求标准浓度与计算浓度的百分偏差, 等等。

可以利用 Microsoft Excel 软件作部分曲线拟合处理。常用“图表”→“XY 散点图”→“添加趋势线”→“趋势预测/回归分析类型”, 能方便地分析线性、对数、多项式、乘幂和指数等曲线类型, 可显示公式、计算 R^2 值、设定截距等。也可应用“函数”或“工具”→“数据分析”作数据统计及检验。

3) 要考虑到数学方程表达的多样性、各类曲线拟合的局限性、临床符合性及其实际应用, 要具体试验具体分析。

(十二) 仪器校正常数

对本仪器与基准仪器相比较所产生的线性关系 $Y = aX + b$ 及系统误差, 需校正的斜率(slope)和截距(intercept)其默认值分别为 1 和 0。有的仪器称仪器校正常数(correction constants)为相关因数(correlation factor)。当待测仪器与基准仪器测定结果有差异时, 应作比对试验, 计算回归方程, 将其斜率和截距代入仪器校正常数, 使仪器间结果具可比性。计算时要注意 X 、 Y 的指代仪器, 也要注意回归方程的校正有效性。不同测定温度间酶活性浓度的转换, 也可利用斜率参数。

(十三) 血清指数

有些仪器称血清指数(serum index)为样品干扰指数(sample interference indices)或 LIH 指数。根据设定的参数, 仪器利用特殊的波长组合、一定的试剂, 对血清样品的混浊(lipemic)、黄疸(icteric)和溶血(hemolytic)的程度进行测定, 并给出相对定量的数值评价或定性的分级描述。利用血清指数, 仪器自动检测判定代替了人工目测, 辅助我们了解样品的脂浊、黄疸和溶血程度及其对检测结果的可能影响。

1. 设置测定参数 ①设定 LIH 测定通道, 有的仪器是指定通道。②确定试剂(选用无色透明试剂, 如 pH7.4 的 Tris-HCl 缓冲液, 或 ALT 双试剂的 R_1 等), 以及试剂与样品量 ③设定计算参数。如 HITACHI-7020 仪的定量计算式要求输入 A、C、D 三个指数系数, 和 B、E、F 三个补偿系数; 这些参数也与打算控制的 LIH 变化范围相关。黄文东等报道的设定值为: $A = 15$ 、 $C = 4$ 、 $D = 52$ 、 $B = 121000$ 、 $E = 15000$ 、 $F = 170000$ 。

2. 统计和设定判断标准 ①在 LIH 通道测定正常健康人群样品的吸光度或相对数值, 建立 LIH 正常参考范围, 设定上限值。②根据对测定项目的影响程度, 配制不同脂浊、黄疸和溶血程度的样品, 在 LIH 通道测其吸光度或相对数值, 设定不同级别(+、++、+++等)下的相应吸光度或相对数值。

3. LIH 样品测定值的补偿 根据试剂盒的抗干扰限值的说明和实测数据, 可以利

用 LIH 指数判断测定是否被干扰,了解 LIH 指数与各种项目测定结果变化的关系。若显著相关且成比例关系,可以利用一些仪器内的补偿公式,或手工对干扰效应作校正。

(十四) 污染参数

有的仪器称污染参数(contamination parameters)为交叉污染(carry over)参数。单线多通道分析仪都可能存在交叉污染问题。需要将互有影响、可能在试剂探针、反应比色杯、搅拌棒或样品探针发生交叉污染的项目组合,以及规定的解决办法(如变换项目或试剂位置、选用特殊清洗剂、增加清洗次数)予以设定。污染主要见于前一试剂的高浓度残留物对后一测定物质的干扰。常见的交叉污染组合有:胆固醇、甘油三酯酶法试剂、肌酸激酶试剂和总蛋白试剂等对镁测定的污染,乳酸测定试剂对乳酸脱氢酶和转氨酶测定的污染,尿素试剂对氮测定的污染,等等。

四、生化分析仪的进展

自 1957 年美国 Technicon 公司生产出世界第一台自动生化分析仪,至今已四十余年。生化分析仪的理念和技术进展迅速。

1. 分析方法学不断进步,酶学偶联法测定血清中钾、钠、氯、碳酸氢盐等无机离子,一步法直接均相测定高密度和低密度脂蛋白胆固醇,免疫比浊法测定糖化血红蛋白 HbA_{1c},克隆酶供体免疫分析(CEDIA)将分子生物学技术应用于免疫分析,等等,提高了测定的特异性、灵敏度、准确度、精密度和自动化程度,拓展了传统生化分析仪的应用范围。

2. 当代新技术革命的各种成果,包括自动化技术、光学、电子学、计算机科学、材料科学的迅速发展,促进了生化分析仪的技术进步。在计算机技术背景下,自动分析装置进一步向高效、智能化、系统化方向发展。微芯片技术使分析仪的微型化、分离检测一体化成为可行的目标。生物传感器(离子选择电极、气敏电极、酶电极、免疫传感器、微生物传感器等)向微型化、针头化发展,结合芯片技术,可小型化多用途。Dimension 系列的 IMT 组件(集成多传感器技术)和 SSM 代谢物传感器可于 50 秒内得到 Na、K、Cl、Glu、Urea、Crea 等九项指标。微量体积技术减少了样品和试剂用量,反应体积可小于 80 微升。

3. 传统的检验医学分支及检测技术互相交叉渗透。借助分子生物学的发展,尤其 DNA 芯片技术,有可能将以前的生化、细菌、病毒、免疫、血液、体液、肿瘤等传统领域,在细胞、分子和其表达产物的检验基础上融合统一。基因分析自动化的进展,也为进一步融合及全实验室自动化创造了条件。

4. 在社会更加重视社区医疗服务及医疗的成本-效果时,在技术不断更新的推动下,生化分析仪等检验手段朝两大方向发展:一是适应社区基层和急诊现场医疗的需要,向小型、快速、简单化和现场化发展,以简易便携式分析仪为代表。另一是适应大型医院和检验所低成本、高效率完成各类检查要求的需要,向随意开放式、组合化、系统化和尖端化方向发展,以组合型、全能一体化全自动分析系统为方向。实验室的自动化、标准化和医疗信息网络化则是其共同发展方向。

(1) 简易便携式分析仪：主要用于现场检验(point of care)或病人床旁检验(bed-side test)，适用于医院急诊室、医师诊所和家庭。常采用干化学技术、胶体金免疫层析技术、生物传感技术等。可一次性测定血气、离子、微生物抗体或抗原、多种毒品和麻醉剂、肌钙蛋白等心肌损伤指标、尿素和肌酐等代谢指标、PT 和 D-二聚体等血凝指标，等等。

(2) 全实验室自动化(total laboratory automation, TLA)或全程自动化(front to end automation)：在分析仪器不断革新、分析中的自动化取得长足进步后，分析前和分析后的自动化及与临床的信息交流网络化是其发展重点。实验室的一体化(consolidation)已成为发展潮流。

1) 标本及相关信息处理自动化：分析前自动化主要指标本采集、制备、传输、分配和检验申请的自动化。条形码编码和自动识别系统是必要条件。它自动从医院数据库查询或门诊读卡机读取病人资料，对标本编码及粘贴条码标签(识别内容包括标本编号、申请项目、容器类型及标本体积等)，自动识别条码，按项目及试验要求分类传送。

分析后自动化主要指检验结果的自动贮存、分析与传送，自动提示异常和危险值，并包括对样品复查及进一步检验的决策及传送、标本归类保存等，也可包括实验室专家诊断系统。

OLYMPUS OLA 1500 实验室自动化系统，可配合多种型号仪器，分栋传送样品，每小时处理逾 1500 管。Beckman-Coulter Biomek 2000 实验室自动化工作站，智能化自动完成标本移液、稀释及分配，并可连接微孔板加热、冷却、冲洗及光度检测等模块平台，扩展功能。Roche 指定任务自动化系列(task targeted automation, TTA)包括 PSD1、VS 250 LR DT 和 VS II 等设备，可分别对原始标本管、次级样品管等进行分类、分配、稀释、二次条码标注、追踪和归类保存等样品流动智能管理。

2) 一体化：提倡一机多用途，检验范围不限于生化，趋向于称为化学分析仪或流水线串联相关实验室设备。国际上著名的仪器厂家均生产全程自动化仪器，将生化、免疫、血液、尿液、药物检测等合为一体。根据需求控制中心智能化分派和跟踪样品测试，充分利用系统资源，以提高工效，改变日前分工过细的实验室布局，又朝多能化发展。目前强调与现有分析系统的有机结合，逐步推进自动化，模块组合式产品成为主流；更强调过程控制(process control)；也强调实验室模块、接口界面、标本识别、测定流程等产品的标准化。

一机多能如一些半自动生化仪可作生化、血凝和酶免测定。TOSHIBA TBA-FR 系列可应用透射比浊法和克隆酶供体免疫测定完成免疫血清学、凝血因子、肿瘤标志物、激素和部分治疗药物浓度测定。Roche COBAS INTEGRA 700 可应用透射比浊法、荧光偏振法等进行治疗药物、滥用药物、特种蛋白等测定。

Roche/Hitachi MODULAR ANALYTICS 系统是比较典型的模块式全自动生化分析仪。它可以根据工作需要，将 ISE 模块、临床化学/均相免疫化学模块、异相免疫化学等分析模块和 TTA 系列样品处理模块整合为一个系统平台，实现一体化，并可进一步装配扩展和现场重新配置。系统可测定 197 个项目，每小时能完成 170 至上万次测试。Bayer ADVIA IMS 亦提供类似的一体化功能。

全实验室或试验全程自动化和一体化，要求由一个系统平台进行控制，实现数据流程一体化(data flow consolidation)。具有现代工作流程管理全部优点的系统管理软件至关重要。如 Roche 公司的 LSM 软件，可将小型到中型血清分析区域的数据流合并到一个主机的标准图形界面，提供下列管理功能：实验室各相联仪器模块状态监视、质量控制管理、测定结果审核认可(自动按预设规则审核 90% 以上的结果,仅 10% 须人工判断)、报告和存档管理。它可以减少设备体积，降低硬件开支，限制多界面的复杂性，简化培训和操作，有利于模块间的协调运作。一个病人结果报告，能提供更加统一和可靠的诊断信息。

随着科学技术和医疗事业的发展,临床化学检验的样品、数量迅速增加,新的检验项目不断增添,传统的手工操作方法已不能满足临床需求。1957年,美国医师 Skeggs 发明了临床化学自动分析技术,并制成单通道连续流动式临床化学自动分析仪(以下简称自动生化分析仪),建立了临床化学自动分析法的里程碑,同时也开通了整个临床医学检验,如血液学、免疫学、微生物学等检验向自动化分析发展的道路。

自动生化分析的优点如下。

1. 提高工作效率,即在单位时间内,一个实验室工作人员可以完成更多的工作,通过自动化可以大大降低单个劳动力所消耗的费用。

2. 提高试验的精密度与准确度,减少测定结果的室内和室间变异系数,增加了结果的可比性和可信度,使检验质量进一步提高。

3. 减少产生差错的因素,例如手工操作时加样品与试剂量相对地不准确,计算结果和填写报告时可发生差错,而自动分析可以避免。总之,不受操作人员的技术高低、工作时间内技能状态(疲劳)等各种因素的影响。

4. 改进分析方法。许多先进的精密方法难以用手工操作方法进行,例如酶的连续监测只能用自动分析方法完成。

5. 目前的自动仪器有监测、统计、储存等多种功能,并可以及时报警纠正错误。在测试过程中若校准液、质控液测定结果不合格,试剂量不足,仪器故障等均能及时报警,可即刻予以处理。

6. 节约每个样品的检验费用。自动分析测定一个项目一般所需样品量仅数微升,试剂用量通常数百微升,对需用昂贵试剂的试验而言,就大大节约了费用,而且分析快,获得结果的时间短,十分有利于患者的及时诊断和治疗。

所以从总体看,国内外大中型医院使用自动生化分析仪器是必然的发展趋势。

第一节 自动生化分析仪器发展概况

临床化学的自动化技术起步于操作的机械化,从钾、钠火焰光度法样品批量检测的机械化半自动稀释开始,较先于 Skeggs 发明连续流动式分析技术的 20 世纪 50 年代。60 年代开发了单通道和多通道顺序式自动生化分析仪(sequential multiple analyzer, SMA);70 年代先后出现了美国杜邦(Dupont)公司的自动临床分析仪(automatic clinical analyzer, ACA)以及不同厂家生产的各种类型的离心式自动生化分析仪;80 年代采用离子选择电极从根本上改变了电解质测定方法的局面,能用全血测定,省略了离心分离血浆的步骤,此法几乎替代了绝大多数火焰光度法检测血中钠、钾的方法。

与检验医学相关技术的发展也是促进自动化仪器发展的重要因素,20 世纪 80 年代后期至 90 年代初采用包括固相酶、离子特异电极和多层膜片的“干化学”试剂系统,不仅为临床化学大型自动分析仪添了几个新的品种,而且开创了即时检验(床边检验)仪器开发的新局面,为重症监护室、诊所医师和患者自测创造了条件。

现从测定项目的特点和仪器发展的角度作一个简要叙述。

1. 专项分析仪 这一类是最早的自动分析的起步仪器,它专门用于测定一至数种项目。例如火焰光度法测定钾、钠,采用机械稀释器代替人工稀释法以提高精密度和装有数据处理器代替人工计算结果,可节省时间,减少计算差错,增加了工作效率,提高了工作质量。数十年以来此类仪器已发展到钾、钠、氯、钙、二氧化碳离子选择电极法测定的专项分析仪和血气专项分析仪等不少品种,其自动化、智能化的程度更高。

2. 批量顺序分析仪(sequential batch analyzer) 此类仪器可依顺序逐个自动分析不同样品的同一项目,速度快,效率高,每小时可完成数百次相同项目测定,明显地提高了工作效率,节约了成本。

因为这种仪器作单项分析的效率确实很高,故很受用户欢迎,但是同一样品需做不同项目分析时,要清洗管道、更换试剂,要化费一定时间,此为其不足。因此,实际上抵销了上述高效率的作用。所以此类仪器在医院的中心检验科使用的并不多,而适用于专项检查的单位,如医院的研究室、环保检测等。这是第一代自动生化分析仪的代表。

3. 固定项目普查式分析仪(fixed profile analyzer) 此类仪器是 20 世纪 80 年代美国 Technicon 公司在单通道连续流动式分析仪的基础上发展起来的,用增加通道增添项目的方法,以提高仪器工作效率。在当时就研制成 SMA6/60、SMA12/60 和 SMA12/30 3 种型号的仪器。型号的含义以 SMA6/60 为例,是顺序式多通道分析仪(sequential multiple-channel analyzer, SMA),每小时可测定 60 个样品,每个样品可完成 6 个固定分析项目的意思,余类推。此类仪器上市以后就盛行多项目普查的方式,但是与疾病无关的项目也包括在内,这样就增加了医疗保险部门不必要的支出,故对此要求压缩。为此,Technicon 公司又开发了计算机控制的 SMAC 型仪器,可以从 20 个项目中选择所需项目进行检测,既符合实际需要又节约了费用。但是此类仪器也有不足之处,因为医院检验不像营业性化验所昼夜忙个不停,而只在上、下午各有一次样品收验高峰,夜间仅有零星样品时使用此类仪器就不太合算。

4. 急诊项目分析仪(stat analyzer) 急诊检验项目最迫切的是缩短报告时限要求,目前在脏器移植中的血钾测定,已能够在接到样品后 2min 内立即报告。这是由缩短送验、样品预处理、分析仪器提高效率三者所决定的。所以缩短急诊项目分析仪器操作时间是个重要因素。所谓急诊项目分析仪是指能够即刻地完成一个或几个与急诊病情有关的检验项目,例如钾、钠、氯、肌酐、尿素、二氧化碳、淀粉酶、血糖、酮体等,可由送验者单独或分组作选项送检。此类仪器必须具备 24h 连续工作的性能和集成式装配的部件,以便有故障时在很短的时间内可以更换修复。另外仪器必须操作简便和 24h 内能处于等候工作状态(standby)。

5. 任选式分析仪(random access analyzer) 近年来任选式的分析仪应用比较普遍,此类仪器能同时测定不同的项目,其特点是没有测定单项目的专一通道和共用的比色皿,而相反有一个可测定多种项目共有通道和各自独用比色皿(反应管)。因为仪器要同时按申请单要求测定不同项目,因此要有独特的测定参数,如波长、检测结果时间、样品与试剂的体积等。

所以在设计上要有高度的灵活性。此类仪器中的新型者一般每小时能完成1 000个左右的结果数据(不是样品,因为每个样品要求检测项目是不同的),它的工作效率很高。任选式分析仪还有一个优点是仪器在操作程序中不受突如其来的急诊样品打乱,可以将准备就绪的急诊样品放在“急诊位置”上,它就立刻进行测定,即时出报告,而不必“排队”。

我国的临床化学仪器发展,1958年有国产光电比色计问世,其中以581型和60年代初的62型分光光度计为知名度较高的产品。1966~1976年这10年中,临床化学基本处于停滞状态甚至有所萎缩。

改革开放后特别是近20多年来引进了不少类型的自动生化分析仪,包括血气分析仪、电解质分析仪等,使我国的酶类测定迅速改用速率法,钠、钾测定已绝大部分改用离子选择电极法。在大医院中传统的Van Slyke血气分析法几乎已全部被血气分析仪所代替。“干化学”法的即时检验自动化仪器在急诊检验室已经较多采用,血糖自测仪器也已经进入我国的家庭等,出现了一个可喜的新局面。同时也带动了国产自动生化分析仪工业和试剂制造业的发展。因此有一定数量的中、小型自动生化分析仪和电解质分析仪等上市。但是大型自动分析仪和各类新型和多种试剂仍靠进口为主。随着我国国民经济持续发展和科学技术水平的不断提高,国产的自动生化分析仪及其试剂将进一步得到发展。

第二节 自动生化分析仪器的分类及其特点

自动分析法早期开发的自动分析仪是采用机械手段代替人工吸加样品和试剂,经化学反应后再自动抽入比色槽中进行比色。它提高了吸液和加液的精度,并减少烦琐的重复操作。此种装置以后发展成为注射器式的自动吸样/稀释器,可以调节吸样的体积和稀释倍数,实际上它是当今自动生化分析仪的样品处理器前身。因此仪器操作者仍然需要在仪器分析过程中将样品管架作手工移动,以完成规定项目的分析步骤。如果某项目需要去除干扰物质,例如采用过滤等手段,则尚需用透析等步骤来完成,要在不同程度上用人工法解决。这是20世纪60年代以前自动生化分析仪的状况,并不完全符合自动分析法的要求,而是一种机械化的分析装置。但是它对提高质量、降低成本、减少人力、提高工作效率是十分有效的。自动化分析系统的概念是指能够在特定的方法步骤中必须自动完成各个必要的动作和具有自控的功能。因此,唯有配置有计算机的自动生化分析仪,能进行检测或自控其动作者才是名符其实的自动生化分析仪。

自动生化分析仪可有两种不同的分类方法。一类是按临床对测定项目不同的要求而进行设计的自动生化分析仪,已在第一节中述及。另一类是按其反应装置的结构进行分类,这是本节将阐述的常用的分类方法。

一、连续流动式自动生化分析仪

连续流动式自动生化分析仪是指测定相同项目的不同待测样品与试剂混合后的化学反应在同一管道内流动过程中完成的仪器,这是第一代自动生化分析仪。它又分为空气分段系统和非分段系统两种,在1960~1970年间曾被广泛采用,后来逐步地被分立式仪器所替代。

(一)空气分段系统

此种连续流动式分析系统的特点是通过比例定量泵挤压弹性样品管、空气管和试剂管

(通称“泵管”),将样品依次连续地吸入并沿着样品管输送,另一方面由空气管吸入的气泡将由同样原理吸入并在试剂管道中将连续流动的试剂分成均匀的节段,样品流和试剂流在连续向前流动过程中相遇、混合,必要时透析、保温,反应直至最后被测定。整个分析过程是液流在管道内连续流动的过程中完成的。该仪器结构示意图如图 1-1 所示。

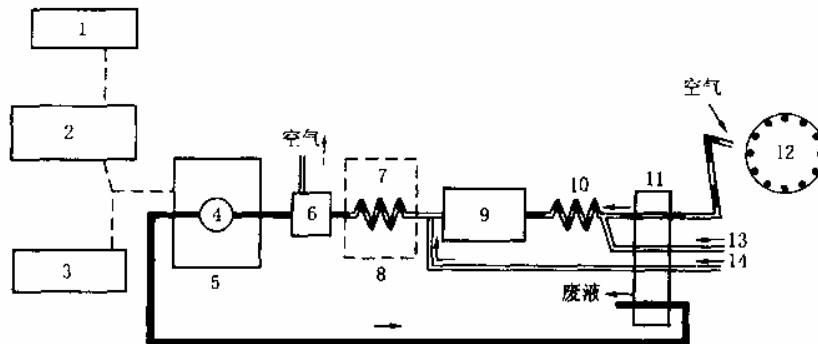


图 1-1 空气分段连续流动式自动生化分析仪结构示意图

1. 打印机 2. 微处理机 3. 记录器 4. 流动比色皿 5. 检测器 6. 除气泡装置
7. 环形反应管 8. 恒温控制 9. 连续分离装置 10. 环形混合管 11. 泵 12. 采样盘
13. 稀释液 14. 试剂

(二)非分段系统

非分段系统是依靠试剂空白或缓冲液来间隔每个样品的反应液。所以在管道中流动的液体不被分段。非分段系统又可分为流动注入系统和间隙系统两种。

1. 流动注入系统 该系统又称流动注射系统,其组成与空气分段者相似,但某些结构

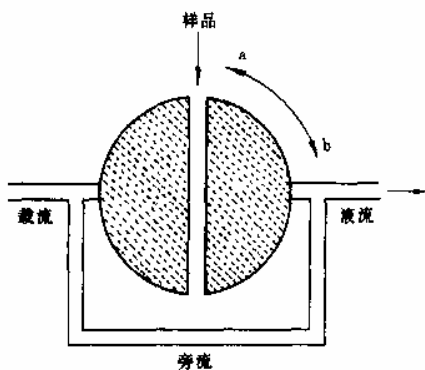


图 1-2 转动阀的工作原理

和工作原理有所不同。空气分段系统是利用气泡分段以防止管道中各反应液在流动过程中的交叉污染,而连续流动注入系统则是通过将样品依次注入连续流动的试剂流管道中来达到此目的,其原理如图 1-2 所示。

当转动阀处于 a 位时,试剂流动被切断,只得通过旁路流动。此时注入样品,并使转动阀转至 b 位,试剂在力的作用下从转动阀的样品管道两端与样品液混合并向前流动,最后进入比色皿。如此样品就依次连续地注入转动阀,这样每个反应液之间均由试剂流隔开。

2. 间隙系统 该系统的结构、组成和工作原理与连续流动注入系统相似,其不同点是每次进样需在前一样品的分析过程结束后方能开始,故每次进样间有一个时间间隙,因此有人称它为不连续流动式分析仪,血气分析仪就属此种类型。

二、分立式自动生化分析仪

分立式为第二代自动生化分析仪,它与连续流动式的主要差别是每个待测样品与试剂混合时的化学反应均分别在各自的反应皿中完成的。根据这个分类方法,离心式、干化学式

(固相试剂式)、袋式均属于分立式一类。

(一)典型分立式自动生化分析仪

此类仪器一般无透析装置,其检测和控制部分的功能与流动式相似,其特点是更加模仿手工操作的过程。不用比例泵,而是用采样器和加液器组成的稀释器采取样品和加试剂。测定管在指定位置停留,采样器和加液器分别将样品和试剂加入测定管中混匀后,置于恒温室(槽)中。到规定的时间后,反应液被吸入检测器中测定或将测定管按顺序进入检测器测定,故称为“顺序式”分析。

(二)离心式自动生化分析仪

离心式自动生化分析仪属第三代仪器,它最初是美国普通医学科学研究所(Institute of General Medical Sciences)和美国原子能委员会(Atomic Energy Commission)共同开发的产品,故曾以两单位的英文名称的第一个字母命名其型号为(GeMSAEC)。目前市场上有几种不同的此类产品,均使用最初型号离心力法,同步混和样品和试剂,然后连续而快速地测定反应结果,故称为“同步分析”。此类仪器有一定的灵活性,若要改变不同的测定项目,仅需简单地更换加液器和试剂,以及改换测定项目编号即可。此外,所用的样品及试剂量不多,可以节省成本和减少样品用量。仪器的关键部分,由聚四氟乙烯或丙烯酸塑料制成的转盘(或称加样盘),它有粘水极少的特性,以达到加液正确的目的(图1-3)。转盘通常具有圆形排列的相同的12个凹槽组合,每组含有2~3个凹槽,沿离心力方向相通。仪器工作时,少量的样品和试剂(5~200 μ l)被分别自动吸进相应的凹槽中,使每一凹槽组合中加有相同的试剂和不同的样品。因此,在转盘转动前样品和试剂分别被隔开在各自的凹槽内。转盘启动后,样品和试剂混合开始反应,经适当时间后各样品在转动中进行检测。

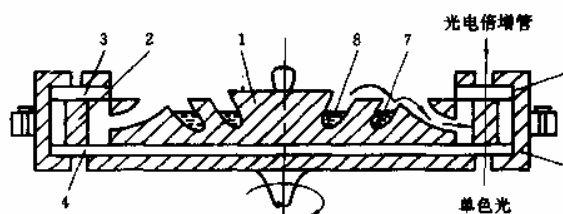


图1-3 离心式自动生化分析仪的转盘

1. 样品传送盘 2. 比色槽 3. 上玻璃圈 4. 下玻璃圈
5. 上套壳 6. 下套壳 7. 样品 8. 试剂

此类仪器按照设计不同可用光度法、浊度法和散射法以及终点法和动态法进行分析,特别适用于酶的动态分析或免疫比浊测定。

(三)干化学式自动生化分析仪

此类分析仪是采用多层薄膜的固相试剂技术,仅需将样品加在固相试剂上进行测定的一种分析系统。它完全脱离了传统的采用试管和吸管的分析方法,仪器操作简便,测定速度快,灵敏度和准确度与典型的分立式仪器相近。所有的测定参数均贮存在仪器的信息磁块中,当编有条形码的特定试验的试条、试片或袋式试剂包放进测定装置后,其贮存的信息就变成测定动作,直至最后报出结果。

目前市场上多见的有三种类型,一种是使用试条的罗氏公司的 Reflotron 系统,它的特点是采用反射光度法。另一种是 Vitros 化学分析系统(Vitros chemistry system),前称柯达 Ektachem 分析仪(Kodak Ektachem analyzer),它与 Reflotron 的区别是前者使用试条,后者则使用试片(块)。这两种仪器的细节在第二章中详述。

再有一种是美国杜邦(Dupont)公司的ACA(automatic chemistry analyzer)化学分析仪采用

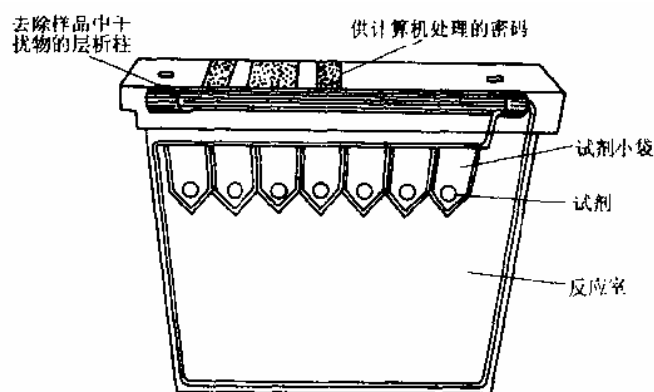


图 1-4 袋式分析仪的试剂包

袋式的干试剂包(图 1-4)进行临床化学分析,所以称为袋式分析仪。

袋式试剂包由透明的双层塑料薄膜制成,100mm × 80mm 大小,每个袋均有不同的测定项目英文缩写标记。测定操作开始时将试剂包放进仪器,样品及其稀释液由探针刺孔注入包内后,在反应过程中的不同阶段,试剂小袋经

破裂器击碎,试剂经混合及保温,然后用透明小袋作为比色皿测定反应后的吸光度变化,最后通过计算机系统换算结果并发出报告。

第三节 自动生化分析仪器的基本结构和工作原理

自动生化分析仪可分为连续流动式和分立式两大类,结构装置和工作模式各不相同。就分立式自动生化分析仪而言,典型分立式、离心式、干化学式的结构装置也不同,工作原理除在各型中相同或近似外,各式之间也有差异。本节就目前应用最广的分立式自动生化分析仪的基本结构和工作原理作一介绍。

(一)加样系统

1. 样品准备 样品架上可放置塑料样品杯或直接放离心后的样品管。样品架根据分析仪的设计分成圆盘状、传送条带状等类型。用条形码的分析仪,可直接阅读样品管上的条形码信息,从而指令分析仪进行分析检测;无条形码的分析仪,需手工输入患者的有关信息及检测的项目。

2. 样品吸取 吸样由计算机控制。吸样针上通常装有液面感应器,主要目的是为了防止空吸或吸入下层的血凝块。

3. 试剂分配 试剂分配由试剂室、试剂加样器、搅拌等部分组成。试剂室一般具有冷藏装置,可放置十几种至几十种试剂,试剂容器大小与试剂的用量和工作速度呈正比。用条形码的仪器可自动识别试剂的种类。试剂加样器的工作方式与样品吸样基本相同,只是多了一步搅拌过程。搅拌可由试剂冲液混合或搅拌棒直接搅拌完成。双试剂式分析仪由第二试剂室和第二试剂加样器所组成,部分仪器还可根据计算机指令,添加第三甚至第四试剂。

(二)检测系统

1. 光源 多数采用卤素灯,工作波长 325 ~ 800nm。少数分析仪用氙灯,工作波长 285 ~ 750nm,氙灯可检测部分需紫外光检测的项目。由于光源自身产热较严重,有些分析仪还特意安装了水冷装置,使光源的使用寿命大幅提高。

2. 分光装置 采用干涉滤光片或光栅分光。干涉滤光片虽然价格便宜,但用久后易受潮霉变,影响检测结果的准确度,尤其是 340nm 滤光片,因此用干涉滤光片的仪器最好经常

用葡萄糖己糖激酶法实测 NADH 的摩尔吸光系数校验仪器。

光栅分光较干涉滤光片有明显优点,尤其采用 340nm 波长的酶类测定结果更稳定可靠。光栅分光可分为前分光和后分光两种方式。后分光的仪器其白炽光(全色光)直接透过比色溶液,再照射到光栅进行分光,色散后取 10~12 个固定单色光,单色光各投到不同波长段的固定光敏二极管(检测器)上,计算机按不同项目的分析参数选择单波长、双波长或多波长的光。前分光与后分光的主要区别在于前分光先分出多个单色光,再照射到比色杯窗口,其他原理基本一样。两者的主要区别在于,后分光可连续不断检测不同波长的反应,但光强度过高时可引起血清胆红素降低;前分光一般不能进行不同波长项目的不间断检测,通常只能单项一次测完后,再测第二项。

3. 比色杯(反应杯) 有多种形式。这里主要就分立式比色杯和流动池式比色杯两种形式作一个介绍。

(1) 分立式比色杯: 比色杯的数量与检测速度有关,一般都在 100 个左右,有些组合式分析仪可有双圈比色杯组成,其数量更多,速度更快。比色杯的光径一般为 0.5~1cm。反应过程分别在各自比色杯中直接完成,经吸光度检测后计算出结果。比色结束后比色杯作自动反复冲洗、吸干,自动检查杯空白,合格后继续循环使用。未通过自动检查的比色杯分析仪会自动报警提示,有些分析仪还会自动停止工作。

(2) 流动池式比色杯: 样品与试剂的反应在圆盘式反应杯中完成,然后按顺序抽吸入比色杯中进行比色测定。各测定之间需消耗一定时间,尤其是速率法检测所耗时间更长,因此此类分析仪的工作速度难以提高。严格讲它是介于连续流动式和分立式分析仪之间的一种形式。

(三)计算机系统

计算机是自动生化分析仪的核心部分,在测试中不断重复的动作,都由它指令进行。所以仪器自动化程度的高低、精密度、准确度良好与否,减少差错,每小时检测次数等均与计算机的设计有关。因此,新一代的仪器总比老一代的自动化程度高,代替人工操作的功能多,试剂及样品用量更少,以不断提高工作效率、降低成本为其设计目标。

自动生化分析仪计算机与仪器的动作结合,一般有以下功能。

1. 患者样品识别 用条形码贴在样品管上,用条形码阅读器将患者的鉴别信息和需要测定的项目输入计算机。遇到尚未使用条形码阅读器的场合,则仍需用人工输入。计算机能将条形码信息转换成相应的动作,始终贯彻在整个测定过程中,直至最后报出结果。

2. 吸加样品与试剂 吸加样品和试剂是由计算机指令的机械手完成的。它的一端装有吸液针,吸加液可用注射器式、蠕动泵及气动泵方式进行。吸液针用内腔/外周每次冲洗法清洗或采用惰性物质包被,使它既不与样品混合,又不影响检测,以免样品间的交叉污染。一个功能正常吸加液的装置应正确地吸加液量,任选式的仪器还具有迅速变换液量的功能。

3. 混和 混和装置在连续流动式自动生化分析仪中采用蠕动泵和螺旋形混合管的装置,但在分立式中使用磁力、机械力(搅拌)方法予以混和。混和的力度和时间由计算机控制。干化学式自动生化分析仪中没有混和装置,样品在试条(片)迅速均匀扩散而完成化学反应。

4. 恒温调控 各类化学反应尤其是酶类的检测需要一个恒定的温度,才能得到可靠的

结果,大多数仪器的恒温温度有 37℃、30℃或 25℃ 3 档可供选择,有的固定为 37℃。恒温方式可分为恒温空气流、恒温水浴流或 Peltier 半导体控温等。为了保证比色杯中反应液有 $\pm 0.1^\circ\text{C}$ 的精度,分析仪对环境温度有一定要求,尤其是恒温空气流和 Peltier 半导体恒温的分析仪。

5. 结果显示和打印 典型的自动生化分析仪用比色杯读取吸光度/透光度结果,从吸光度/透光度转换发展到日前用阴极射线屏幕显示,将数据结果列成表格,可由计算机指令打印机打成表格发送病房或患者。十化学式自动生化分析仪则直接从试条或试片上用反射光度计法读取信号,再由计算机换算后显示结果。报告显示、打印发送报告单方式与典型分立式同。

6. 数据管理 自动生化分析仪的分析数据是通过仪器中微处理机与实验室信息系统(laboratory information system, LIS)进行联网管理。患者的原始资料和数学运算数据,如校准曲线、吸光度、透光度换算和对数转换等都是微处理机软件预先设置的功能。患者检测结果可贮存于盘片或直接打印成书面档案长期保存。当仪器所在的检验科已设有信息系统 LIS 时,大型的自动分析仪(包括自动生化分析仪)通常与 LIS 联网。单向接口只能将患者检测结果输向 LIS,而双向接口能将仪器与 LIS 的信息双向流通。

第四节 自动生化分析仪器的发展和应用展望

临床化学是紧跟着自然科学和医学科学的进步而发展起来的。如将 19 世纪初的淀粉酶、20 世纪 20 年代的胆红素和 30 年代的碱性磷酸酶测定作为发展标志,其发展速度不快,因为当时的自然科学和医学科学的发展速度是无法与当今的快速度相比较。直至第二次世界大战结束时,临床化学检验人员常在一间小屋里用试管自配试剂,以制备血滤液为常规,用本生灯烧灼非蛋白氮消化管,煮水浴锅中血糖以及使用 Van Slyke 血气测定仪测酸碱平衡等。

20 世纪 50 年代以来,由于自然科学、医学科学、临床医学的蓬勃发展,临床化学检测项目不断增加,数量快速上升,带来了临床化学的发展机遇。

一、发展概况

20 世纪 50 年代后期,第一代连续流动式自动生化分析仪问世,是带动 30 余年来自动生化分析仪发展的“龙头”,近 10 余年间发展迅猛,主要有以下几方面。

(一)自动化仪器制造相关技术的进步

随着计算机应用,计算机快速的数据运算和传送,使自动生化分析仪从单通道到多通道,智能化、速度、精密度、准确度一代胜过一代。

在仪器检测技术方面也从光吸收法发展到光散射、荧光、反射光度法、金标记免疫法、离子选择电极法、底物特异性电极检测等方法。所以自动化仪器制造相关技术的进步推动了自动生化分析仪的发展。

(二)各种传感器的应用

1. 电化学传感器 目前有使用电位法和电流强度法的离子选择电极、底物特异性电极几种。它们在发展急、重症监护医疗工作中及时诊断,监测病情,判断预后的血气和电解质

分析仪中的应用,发挥了重要的作用。

2. 光导纤维传感器与光导纤维化学传感器 此两种光导传感器目前已分别应用于体内式血气分析的氧合和还原血红蛋白的检测。光导纤维化学传感器也称为光电极,其中有吸收型、荧光强度型等类型。目前市场上可见的主要是吸收型和荧光强度型。大多数光导化学传感器的发展与应用主要在 pO_2 、 pCO_2 及 pH 的检测,尤其是发展体内式床边使用(即时检验)仪器的方面。

(三)仪器向各种用途的类型发展

从自动生化分析按项目特点的分类着眼,其发展由专项分析仪开始,直至 20 世纪 90 年代期间的任选式分析仪,均属于大型仪器。目前的任选式自动分析仪的各方面的功能已日趋完善,因此有人认为它的发展已定于高地状态,无从攀高。另外,小型化仪器适合患者自测的和重症监护用的床边即时检测仪器发展甚快,特别是血钾能在收到标本后 2min 内发出报告,使即时检验顿时引起临床特别是脏器移植外科的关注。目前即时检验已成为临床医学的热门话题。患者自测的半自动仪器,以血糖手持式测定仪为例,在国外已经十分普遍,国内也正在逐步地推广应用。

(四)大型仪器向模块组合式发展

全自动生化分析系统按模块组合式设计,业已成为当今大型生化分析仪器发展的又一个趋势。这种模块组合式的全自动生化分析系统主要由共同的操作单元和作为系统支柱的“核心”单元以及不同类型和功能分析模块构成。根据需要可将不同类型和功能分析模块巧妙地组合起来,由微处理机连接并配以先进的软件系统。这样既提高了仪器的分析速度,又扩展了仪器的分析功能,以适应不同临床样品分析项目不同的要求。当需要进一步提高分析速度和扩展分析功能时,只需增加分析模块即可,具有高度的灵活性。

(五)分析技术的进步促进仪器的发展

分析测定方法的自动化不能单依赖仪器的进步,新的分析技术应用也是非常重要的因素。近 20 余年来临床化学技术的重要进展主要有以下三方面。

1. 免疫化学分析领域中单克隆抗体和酶标记方法,尤其是碱性磷酸酶标记法的广泛应用,其测试灵敏度虽然大部分方法尚未达到放射免疫法的程度,但已经超过了临床化学传统方法的灵敏度范围,所以此类方法如雨后春笋般成长发展。此外,尚有荧光、化学发光物质标记抗体法已经在酶、激素及药物分析中应用,其中有些方法可替代放免法。

2. 等电聚焦与毛细管电泳被重新提出来发展,尤其是在脑脊液蛋白电泳时寡克隆蛋白、异常血红蛋白和肌酸激酶的同种型(isoform)检测中应用。

3. 20 世纪 80 年代间多聚酶链反应(PCR)使分子生物学 DNA 扩增技术飞跃进步,将寡核苷酸扩增检测时间从 1~2 周的旧方法缩短为 24h 完成,它已成功应用于镰状细胞贫血、肌萎缩、纤维性囊肿、肝炎病毒、艾滋病、巨细胞病毒诊断等。

总之,新的分析技术的进步若与自动分析仪相匹配,将使新技术的推广应用步伐大大加快。

二、展望

21 世纪将是一个信息和分子生物学的世纪,计算机及其网络将伸展到日常生活中的每个角落。除了临床化学的少数项目必须由大型自动生化分析仪检测以外,大部分检验(估计

80%) 在患者就近地点或床边完成。患者自测项目将进一步发展。

从长远着眼,绝大部分检验项目将采用非损伤性生物传感器的检测方法。样品、物资和信息的传送将进一步用计算机控制的自动传递方式进行。检测项目、样品数量、患者与样品核对等均用电子信息的方法控制,而且可根据病情要求确定发回报告的时限。报告可以直接由网络发回给临床医师或患者本人。

使用现成包装试剂的方式将由灵活性较高的机械手(机器人)以用多少配多少的方法即时配制所替代,它能够模仿人手的一切动作制备试剂、质控样品等,毋须人工干预。

因为机械手或控制器代替大量的人力,所以检验科的人员编制将显著减少。技术人员将集中精力去做计算机所不能完成的工作,如检验结果的临床意义的解释以及开发新的项目等。

第五节 自动生化分析仪实例介绍

一、国产 XD 811 生化分析仪

XD 811 生化分析仪(XD 811 clinical chemistry analyzer)系上海迅达医疗仪器公司自行研制、开发生产的半自动生化分析仪。仪器配置了专用大屏幕图形化程序,采用薄膜轻触键或鼠标器进行各种规范化操作,完成单波长或双波长的临床常规生化测定,适用于各级医院的临床检验部门。

【性能特点】

1. 采用大屏幕 LCD(液晶)或 CRT(触摸屏)显示,配以专用的图形化中文软件。人机对话,操作过程极为方便。

2. 检测通道为开放式,可使用各种试剂。

3. 采用了具有强聚光性能的光路设计,提高了光能利用率和仪器的稳定性。

4. 具有永久保存的数据档案库和断电数据自动保护和恢复装置。小型档案库可保存最多达 25 000 个测试数据,并可随时按病历号或按日期进行查询。

5. 可进行多点定标(最多为 8 点)和多种校准曲线(线性方程和非线性方程——折线、二次曲线、分对数曲线、三次仿样函数和四参数方程)拟合方式确保定量分析结果准确性。

6. 质控功能每个项目都可测定两个浓度的质控样品,能贮存最多 31d 的测定结果,并能随时查询结果和显示质控图。

7. 仪器具有系统自检功能,包括键盘、光源灯、温度、吸液泵、打印机、滤光片定位、吸光度读数、日期设置等,同时配置了 RS232 标准接口可实现与外部计算机通讯。

【技术指标】

1. 光路系统 采用 6V/10W 石英卤素灯为光源,标准滤光片(7 片)为单色器、波长范围从 340 ~ 700nm。杂散光 $\leq 0.5\%$ 。

2. 反应系统 采用钛合金石英窗温控流动比色池,温控精度 $\leq 0.1^{\circ}\text{C}$,在反应液吸入量为 500 μl 时,交叉污染率 $\leq 1.5\%$ 。

3. 检测器 采用硅光电池。吸光度检测范围 0 ~ 2.500A,分辨率 0.001A,准确度 $\pm 0.02\text{A}$,线性误差 $\pm 2\%$,精密度 CV $\leq 1\%$ 。

4. 仪器稳定性 $\leq 0.002\text{A}/10\text{min}$ 。

【运行环境】

1. 体积 $450\text{mm} \times 415\text{mm} \times 280\text{mm}$ 。

2. 电源 $220\text{V}, 50\text{Hz}$ 。

3. 环境温度和湿度 温度 $10 \sim 30^\circ\text{C}$, 相对湿度 $\leq 80\%$ 。

二、Olympus AU 系列全自动生化分析仪

奥林巴斯光学工业株式会社(Olympus Optical Co. Ltd.)创立于 1919 年,1920 年首次在日本成功地将显微镜商品化,从而作为精密、光学技术的代表企业开始起步。

该公司以先进的光学技术及精密工艺为起点,经过多年的研制与开发,于 1968 年初成功地生产出日本第一台自动生化分析仪(automated chemistry analyzer, ACA),从而首次涉足自动生化分析仪器领域。1974 年生产出日本第一台使用速率法的自动生化分析仪 ACA4 型(12 通道)。从 20 世纪 70 年代初开始至 90 年代,Olympus 公司生产了十几种型号的大型及超大型自动生化分析仪,并于 1994 年开始进入中国市场。1996 年以后更先后推出 AU1000、AU400、AU640 等大中型仪器,使在中国市场的占有量迅速上升为 500 台左右。在新世纪到来之时,Olympus 公司推出了全新设计的 AU2700 及 AU5400。Olympus 新仪器的主要设计思想是使大型实验室的成本消耗降低的同时仪器保养工作量也减少,而工作效率大为提高。

(一)AU400 全自动生化分析仪

【性能特点】

AU400 全自动生化分析仪(AU400 analyzer system for clinical chemistry)是一台中型全数码化分立式任选型仪器。它除了 AU 系列所共有的采用全数字光路系统后分光、支持网络诊断、2 种进样系统、智能防堵防撞等功能(详见 AU2700 全自动生化分析仪)外,还有以下特点。

1. 试剂仓采用了单仓双圈方式,单个试剂仓内外 2 圈共计 76 个试剂位,可混合编排单、双试剂,用户可按需要灵活设置。

2. 搅拌采用 4 头 3 清洗搅拌系统,共计 6 根微螺旋式不锈钢搅拌棒,以 2、1、2、1 排列。既保证了搅拌充分,又防止了交叉污染。

3. 采用了标准的样品架加样方式,一次可加 80 个样品(10×8),并可在使用过程中不断追加样品,使其发挥最大效益。

【技术指标】

1. 分析项目 同时分析 48 项,加离子选择电极(ISE)可同时分析 51 项。

2. 分析速度 恒定 400 项次/h,接选配 ISE 可达 800 项次/h。

3. 样品量 $2 \sim 50\mu\text{l}$ (含条形码识别), $0.5\mu\text{l}$ 增减。

4. 试剂量 $25 \sim 300\mu\text{l}$ (含 R1 和 R2),最小试剂量 $150\mu\text{l}$ 。

5. 试剂存放能力 内外 2 圈 R1 加 R2 共 76 个试剂位,含条形码识别和试剂冷藏。

6. 急诊设定 ①急诊台方式。②急诊样品架方式。

7. 反应容量 最小 $150\mu\text{l}$,最大 $550\mu\text{l}$ 。

8. 反应温度 $(37 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ 。

9. 反应时间 8min 37.5s。

10. 反应杯 6mm×5mm×30mm 石英玻璃杯,共 88 只。
11. 吸光度读测时间 间隔 19s 读测一点,从 0~27 共 28 个读测点。
12. 数据储存 30 000 个样品。
13. 光源 卤素灯,12V,20W。
14. 波长 光栅后分光,13 个固定波长(340nm、380nm、410nm、450nm、480nm、520nm、540nm、570nm、600nm、660nm、700nm、750nm、800nm)。
15. 比色方式 单波长和双波长。
16. 吸光度线性范围 0~3.0A,分辨率 0.000 1A。
17. 远程通讯 通过调制解调器能实现远程通讯控制。
18. 软件系统 Windows NT。
19. 数据接口 标准 RS232C。

【运行环境】

1. 体积和重量 AU400 分析仪 1 450mm×760mm×1 210mm,420kg。数据处理器 1 200mm×700mm×700mm,70kg。
2. 电源 电压 220V 单相±10%,电源功率 3.5kW。
3. 环境温度和湿度 温度 18~32℃,相对湿度 40%~80%。
4. 供排水 去离子水Ⅱ类无菌,持续流动(由纯水器提供),导电率 2.0μs/cm,压力 49~392kPa,用水量 26L/h,水平排水,离地最大高度 0.1m。

(二)AU640 全自动生化分析仪

【性能特点】

AU640 全自动生化分析仪(AU640 automated chemistry analyzer)是由 Olympus 公司 1999 年出品的大型全数码化分立式任选型仪器。它是广受好评的 AU600 的升级换代产品。具有大容量的样品库,一次加满可达 150 个样品,采用了各有 48 位的双试剂仓,同时应用双试剂可测 48 个不同项目,2 套试剂针分别吸取 R1 和 R2 试剂,保证了每小时恒定进行 800 项目测试。它有 2 套搅拌系统,分别采用 3 头双清洗系统,保证搅拌充分、冲洗干净、交叉污染减至最低。另外它还具有 AU 系列所共有的数字化光路、智能防撞、网络远程控制等全部先进功能(详见 AU2700 全自动生化分析仪)。

【技术指标】

1. 分析项目 同时分析双试剂 48 项,加 ISE 可同时分析 51 项。
2. 分析速度 恒定 800 项次/h,接选配 ISE 1 200 项次/h。
3. 样品量 2~50μl(含条形码识别),0.5μl 增减。
4. 试剂量 25~300μl(含 R1 和 R2),最小试剂量 150μl。
5. 试剂存放能力 R1,48 瓶(30ml 和 60ml);R2,48 瓶(30ml 和 60ml)。含条形码识别和试剂冷藏。
6. 急诊设定 ①急诊台方式。②急诊样品架方式。
7. 反应容量 最少 150μl,最大 550μl。
8. 反应温度 (37±0.1)℃。
9. 反应时间 8min15s。

10. 反应杯 6mm×5mm×30mm 石英玻璃杯,共 153 只。
11. 吸光度读测时间 间隔 18.3s 读测 1 点,从 0~27 共 28 个读测点。
12. 数据储存 30 000 个样品。
13. 光源 卤素灯(12V,20W),寿命≥2 000h。
14. 波长 光栅后分光,13 个固定波长(340nm、380nm、410nm、450nm、480nm、520nm、540nm、570nm、600nm、660nm、700nm、750nm、800nm)。
15. 比色方式 单波长和双波长。
16. 吸光度测定范围 0~3.0A,分辨率 0.000 1A。
17. 远程通讯 通过调制解调器能实现远程通讯控制。
18. 软件系统 Windows NT。
19. 数据接口 标准 RS232C。

【运行环境】

1. 体积和重量 AU640 分析仪 1 850mm×800mm×2 400mm, 530kg; 数据处理器 1 200mm×700mm×700mm, 70kg。
2. 电源 电压 220V 单相,电源功率 4kW。
3. 环境温度和湿度 温度 18~32℃,相对湿度 40%~80%。
4. 供排水 去离子水Ⅱ类无菌,持续流动(由纯水器提供),电导率 2.0μS/cm,压力 49~392kPa,用水量 40L/h。

(三)AU2700 全自动生化分析仪

【性能特点】

AU2700 全自动生化分析仪(AU2700 automated chemistry analyzer)是 Olympus 公司 2000 年推出的一台超大型全数码化分立式任选型仪器。它既集中了在其他 AU 型号生化分析仪上已经采用的成熟技术,又有其独特的设计和特点。

1. 光学系统

(1) 集束式点光源(single spot photometry): 该公司于 1996 年率先在 AU600 型生化仪上采用,以后生产的各机型均采用该技术,简而言之,该系统在光源与比色杯之间使用一组特制透镜,其目的是将原始光源灯投射出的光在通过比色杯时将光束变成一束点光源(与传统仪器的楔形光束不同)。这样,即使比色杯最小反应体积只有 120μl,光束也能完全通过。AU2700 是大型全自动生化仪采用直接法中使用试剂量最小的仪器,与传统方法相比,节约试剂消耗约 40%~60%。AU2700 还采用先进的单光源双光路设计,保证内、外圈比色杯在相同强度光束下同时比色,确保内外圈比色杯的测定结果相同。光束通过比色杯后,在经过一组还原透镜(光差纠正系统),将光束还原成原始光,然后经过光栅后分光成固定的 13 种波长。

(2) 光/数码信号直接转换技术: 1996 年该公司首次在 AU600 型生化仪上采用光/数码信号直接转换技术,它将光路中的光信号直接转变成数码信号,将电磁波对信号的干扰及信号传递过程中的衰减完全消除。在传统光路中,仪器、电机、电源及生化仪本身均会产生大量电磁波,这些电磁波会对电信号产生不同程度的干扰。同时,电信号在传导过程中也有一定程度的衰减。这些因素都会影响测定结果的稳定性和精确性。Olympus 革新性的将光

信号转换成数码信号,同时采用光导纤维传输信号,这样可将测试精度提高近百倍。其发展趋势必将是今后生化仪优先采用的技术。

(3) 光栅: Olympus 全自动生化仪现采用后分光技术(AU1000、AU5200 为前分光),光栅是使用超长寿命全息光栅,当光束照到光栅后,自然分成 340nm、380nm、410nm、450nm、480nm、520nm、540nm、570nm、600nm、660nm、700nm、750nm、800nm 等 13 个固定波长。光路系统完全封闭在黑盒子中,无需任何维护保养。

(4) AU2700 双光路系统工作流程图:光源→光纤将单束光分成双路→集束光装置→点光束→光径 6mm 比色杯→光差纠正系统→光栅→内置信号放大器→RISC CPU 传送 64 位数码信号→光导纤维传送数码信号(arcnet transmission)。

2. 进样系统

(1) 常规样品: 1980 年该公司开始推广轨道式进样,最初采用后轨道,自 1996 年以后,该公司所有的生化仪已全部改用侧轨道和前轨道。使进样既方便灵活又具有可扩展成自动化实验室的潜力。每个样品架可放置 10 个样品,样品架按功能及颜色分为常规、急诊、质控、定标、重测、空白样品架,仪器能自动识别。AU2700 还特别设计了超大样品平台,可同时放置 300 份样品,连续加样,随到随加,每日最多可达 2 000 个样品。在仪器工作时,后续样品可随到随加,以提高实验室的工作效率。仪器设计有自动重测功能,当测试结果超出了用户自定义范围,该样品会自动重新回到进样区、仪器自动稀释样品或减量后再重测,或遇有堵针报警后自动重测,并将结果自动覆盖原测定结果。样品容器可使用内径 11~16mm,高度 50~100mm 的样品管、原始采血管或样品杯及微量样品杯。

(2) 急诊样品: AU 系列生化分析仪均采用两种急诊样品插入方式。①独立急诊台方式。生化仪备有一专用急诊转盘,可同时放置 22 个急诊样品,另有 7 个位置可放置质控品和校准品,急诊转盘具有冷藏功能,且可优先检测。如果使用专门配套的急诊试剂,4min 后即可查到 7 项急诊测定的结果;更设计有“一触即发”功能,即使毫无操作仪器经验的人,也能胜任急诊工作。一般情况下急诊台检测血清样品,也可以检测尿、脑脊液等。急诊转盘也具有条形码阅读功能。需要测定急诊样品时,可随时插入,不影响常规样品的测试排序。②样品架急诊方式。AU 系列生化分析仪均可使用轨道进行急诊样品插入,方法为使用红色样品架,当轨道上放有红色样品架时,仪器可自动判断为急诊检测样品。

(3) 重测样品: AU 系列生化分析仪均可自动重测样品,当测试样品的结果超出了用户定义的范围,即可自动重测。如果结果偏高,则稀释后再测(后稀释);如果结果偏低则增加样品量后再测。

(4) 样品前稀释: 由于软件功能中样品稀释比例最高为 1:150,当一些免疫及特殊项目需更大稀释比例时,需使用前稀释功能,其方法为将待测样品加入比色杯中稀释,稀释倍数 5~100 倍,再将稀释样品加入测光比色杯中进行固定程序分析。

(5) 超微量样品量: AU2700 设计了超微量样品方式,每项测试的最小样品量仅为 1.6 μ l,样品量范围 1.6~25 μ l,0.1 μ l 步进,并使用随量跟踪技术,保证加样为零误差。

(6) 样品架: 样品架设计非常灵活,在同一个样品架上,可使用各种类型的样品杯及样品管和各种不同的条形码系统。

3. 样品、试剂搅拌系统 AU 系列生化分析仪采用独创的多头回旋式双清洗位搅拌系

统,其特点如下。

(1) 多头回旋搅拌单元: 3 组搅拌棒组成搅拌单元, 当第 1 组搅拌棒在搅拌样品/试剂或混合物时, 第 2 组搅拌棒同时进行含高效清洗液的水清洗, 第 3 组搅拌棒同时进行温水清洗及风干过程。3 组搅拌棒顺时针方向旋转, 按上述方式逐步进行清洗, 使仪器在固定的机械循环时间内最高效合理地冲洗搅拌单元。

(2) 搅拌棒: AU2700 生化分析仪的 R1 搅拌棒采用新型螺旋型高速旋转搅拌, 双向旋转搅拌, 这样增加了搅拌的力度和不易起气泡, 保证测试结果准确。搅拌棒表面采用特殊不沾涂层, 使更易清洗和保养。R2 搅拌棒采用最新的“L”形搅拌棒, 双向旋转搅拌, 可使加入第 2 试剂时对反应曲线干扰降为零, 测试的重复性得到进一步加强。

4. 冲洗系统

(1) 搅拌棒冲洗(如上述)。

(2) 比色杯冲洗: 当测试完成后, 采用多步骤自动清洗过程进行比色杯清洗, 其流程图如下: 污染比色杯→吸干反应原液→加注清洗剂 A→吸出清洗剂 A→加注清洗剂 B→吸出清洗剂 B→加注温水(反复 4 次)→吸出温水(反复 4 次)→吸干→擦干→干燥→干净比色杯。

(3) 样品、试剂探针冲洗: ①内壁。高压、温水单向水流冲洗。②外壁。采用单“激流”(瀑布)式单向清洗池, 水流自上向下流动, 将探针携带的污物冲向排水口。

5. 恒温系统 AU 系列生化分析仪采用恒温液循环间接加温干式浴。其工作原理如下: 在比色杯周围设计一恒温槽, 在槽内加一种稳定恒温液。其特点为升温迅速, 温度均匀、稳定。在比色杯与恒温液之间有薄膜相隔, 使比色杯不直接接触恒温液, 这样, 比色杯可永久使用。

6. 比色杯 AU2700 的反应盘共有 330 个比色杯, 采用单盘双轮式。比色杯为内外 2 圈, 比色时内外圈 2 个比色杯同时比色。比色杯采用硬质石英玻璃, 光径 6mm, 耐酸耐碱, 自动冲洗, 可永久使用。仪器自动检测比色杯透光性, 当发现有未清洗干净的比色杯时, 会跳过该杯继续进行检测。

7. 探针系统 AU2700 样品探针为单根双腔型探针, 探针取一份血清, 加样时按内外圈 2 个比色杯分别加样。样品量范围 1.6~25 μ l, 再检时从 1 μ l 开始, 0.1 μ l 步进, 并采用随量跟踪技术以保证加样零误差。AU400、AU640、AU2700 生化仪探针均采用以下技术。

(1) 自动液面探测: 探针带有感应装置, 探到液面后会停止下降。

(2) 随量控制技术: 探针可依据吸入液体的多少, 自动调节探针的下降高度。探针也会自动调节高度以防止加注液体时溅到比色杯壁上, 保证超微量分析的精确性。

(3) 智能防撞保护功能: 探针遇有纵向或横向一定阻力后会停止运动以保护探针, 但只停止被撞探针的运动, 以前已加试剂及样品的测试继续进行。

(4) 防堵及探测血凝块功能: 探针能自动探测血清中的血凝块或纤维蛋白而报警。当发生堵针时, 探针内有一强水压将堵物冲出, 可免除堵针时造成的测试结果不准确。发生堵针并处理后的样品会自动重测。

8. 试剂系统 AU 系列生化分析仪均采用开放式设计, 用户可自行选择试剂。试剂瓶可分 120ml、60ml、30ml、15ml 几种, 用户根据工作量大小自行选定。使用 120ml 试剂瓶时, 一瓶试剂可检测多达 4 000 个测试。该仪器使用条形码阅读试剂位及固定试剂位 2 种方式, 开

机后自动检测试剂量及可测项次数量。试剂仓采用半导体制冷($4\sim 12^{\circ}\text{C}$)。

用户可根据自身经济实力选择使用配套的试剂。如使用该公司试剂,条形码登录会自动检测项目、出厂日期、有效期等。原厂试剂为浓缩型,仪器自动稀释后进行检测。该公司同时生产各种规格的定标液和质控液,若使用该公司的定标液校正仪器能使测定结果更稳定可靠。

9. 电子系统 采用多微处理器(CPU)系统,各工作单元如光路、恒温、加样、搅拌、清洗等均有独立 CPU。各 CPU 之间的通讯采用无噪音干扰的网络连接及传送,以提高速度和准确性、稳定性。操作系统采用 Windows NT 新图形软件。

10. 条形码登录 AU 系列生化仪条形码系统均为标准配置。条形码识别采用混合式,可使用 NW7、Code128、Zof5standard、ISBTCode1、Zof5interleaved 等,最大可使用 22 位。AU2700 生化仪共采用 5 部条形码登录。配备有样品架、样品管(患者 ID 号)、急诊样品、试剂 1、试剂 2 共 5 部条形码阅读器。

11. 软件功能 采用 Windows NT 软件,图形操作界面。AU2700 主计算机能存储 60 000 个患者数据,20 000 个反应曲线,并通过 Internet 进行远程培训及仪器故障判断。在样品质量分析中,可分析出溶血、脂浊、黄疸及血凝块等情况并给予提示报警。有中文报警系统,使用方便。

【技术指标】

1. 分析项目 同时分析 48 项,加 ISE 可同时分析 51 项。
2. 分析速度 恒定 1 600 项次/h;接选配 ISE 可达 2 134 项次/h。
3. 样品量 $1.6\sim 25\mu\text{l}$ (含条形码识别), $0.1\mu\text{l}$ 增减。
4. 试剂量 $15\sim 250\mu\text{l}$ (含 R1 和 R2),最小试剂量 $120\mu\text{l}$ 。
5. 试剂存放能力 R1,48 瓶;R2,48 瓶。含条形码识别和试剂冷藏。
6. 急诊设定 ①急诊转盘方式。②急诊样品架方式。
7. 反应容量 最小 $120\mu\text{l}$,最大 $430\mu\text{l}$ 。
8. 反应温度 $(37\pm 0.1)^{\circ}\text{C}$ 。
9. 反应时间 8min20s。
10. 反应杯 $6\text{mm}\times 5\text{mm}\times 30\text{mm}$ 石英玻璃杯,内外两圈共 330 只。
11. 吸光度读测时间 间隔 18.5s 读测 1 点,从 0~27 共 28 个读测点。
12. 数据储存 60 000 个样品。
13. 光源 卤素灯(12V,100W)。
14. 波长 光栅后分光,13 个固定波长(340nm、380nm、410nm、450nm、480nm、520nm、540nm、570nm、600nm、660nm、700nm、750nm、800nm)。
15. 比色方式 单波长和双波长。
16. 吸光度线性范围 $0\sim 3.0\text{A}$ 。
17. 远程通讯 通过调制解调器能实现远程通讯控制。
18. 软件系统 Windows NT。
19. 数据接口 标准 RS232C。

【运行环境】

1. 体积和重量 AU2700 分析仪 $2\,000\text{mm}\times 1\,140\text{mm}\times 1\,260\text{mm}$,700kg。数据处理器

1 200mm×700mm×700mm,70kg。

2. 电源 电压 220V 单相±10%。电源功率 6.0kW(最大),平均 3.0kW。

3. 环境温度和湿度 温度 18~32℃,相对湿度 40%~80%。

4. 供排水 去离子水Ⅱ类无菌,持续流动(由纯水器提供),电导率:2.0μs/cm,压力 49~392kPa,用水量 62L/h。

(四)AU5400 系列全自动生化分析仪

AU5400 系列全自动生化分析仪(AU5400 analyzer system for clinical chemistry)含 AU5421 和 AU5431,该系列仪器是 Olympus 公司第 3 代模块组合式超大型全自动生化仪,采用了分别吸取试剂和样品的分配方式,使样品和试剂的使用量大幅度减少(比传统分注方式节约 50%),该系列特别适用于大规模检验中心和大型医院等具有大量样品的单位。

【性能特点】

1. 采用蚀刻光栅后分光、内置高速度数码变换基板,使反应液量仅 120μl 的超微量检测数据的高信赖性和高速处理得以实现。

2. 采用样品分注装置,使脉冲电机的每一步刻度更为减小,达到了 1.6μl 的超微量分配,并以每一步 0.1μl 增减。

3. 最低总反应液量仅 120μl,减少了试剂消耗;使用了石英玻璃反应杯和干式恒温液循环加温方式,不需更换反应杯,减少了日常消耗。

4. 仪器设计成可随意追加样品的样品架加样线,一次可加 300 个样品,可不断追加。

5. 具有样品针堵塞报警和撞针自动检测报警功能。当纤维蛋白等原因堵塞样品针时屏幕即出现报警画面;当样品针和样品杯发生碰撞时,动作会自动停止,但已加好的分析样品检测继续进行。

【技术指标】

见表 1-1。

表 1-1 AU5400 系列技术指标

	AU5421	AU5431
分析项目	同时分析 95 项,接选 ISE 配件时 98 项	
分析速度	最大 3 200 项次/h,接选配件 ISE 1 时最大 4 100 项次/h,接选配件 ISE 2 时最大 5 000 项次/h	最大 4 800 项次/h,接选配件 ISE 1 时最大 5 700 项次/h,接选配件 ISE 2 时最大 6 600 项次/h
样品量	1.6~2.5μl,0.1μl 增减	
试剂量	15~250μl,1.0μl 增减	
反应液容量	最小 120μl,最大 430μl	
试剂分注方式	试剂吸取分配方式	
试剂存放能力	R1:48;R2:48。120ml、60ml、30ml、15ml 试剂瓶对应,含条形码识别和试剂冷藏	
样品前稀释	5~100 倍	
反应杯	石英玻璃,光径 6mm	
测量波长	340~800nm,共 13 种	
反应时间	8min 20s,可设定	
数据储存	60 000 样品	
系统接口	RS232C	

【运行环境】

见表 1-2。

表 1-2 AU5400 系列运行环境

	AU5421	AU5431
体积	3 310mm × 1 140mm × 1 260mm 连接 ISE 配件时:3 760mm × 1 140mm × 1 260mm	4 620mm × 1 140mm × 1 261mm 连接 ISE 配件时:5 070mm × 1 140mm × 1 261mm
重量	分析仪:1 270kg 连接 ISE 时:1 370kg	分析仪:1 680kg 连接 ISE 时:1 780kg
环境温度和湿度	与 AU2700 相同	

三、Hitachi 系列全自动生化分析仪

日立(Hitachi)系列全自动生化分析仪由日立产业株式会社生产和经营。由于微电脑控制与多波长分光光度计相结合的广泛应用,使日立全自动生化分析仪有了很大发展,技术上不断完善。光学系统采用了无像差凹面蚀刻光栅后分光技术和全反应过程吸光度监测。可选择不同的反应监测时间,最长可达 20min,并能满足最多达 4 种试剂的添加分析。

各种类型的日立系列全自动生化分析仪分别适用于不同级别的医院。它们均具有功能全、分析精度高、操作简便、分析快速、节省试剂、经久耐用、故障率低等特点。

新近又开发了 7600 系列产品。采用模块化的分析单元,可任意组合和扩展。各个模块既能独立工作,又可以在工作中自动相互调配测试项目,极大地提高了分析效率。

(一)日立 7020 全自动生化分析仪

【性能特点】

日立 7020 全自动生化分析仪(Hitachi 7020 automatic analyzer)是一台专为中国用户设计的全汉字液晶显示触摸屏,按中文提示进行操作的分立式紧凑型随机任选式生化分析仪。它是日立公司产品中最小型的自动生化分析仪,体积虽小,功能齐全,具有同时测定最多 36 个测试项目和最高每小时 200 项测试的能力,操作简单,试剂全开放。分析方法类型齐全,校正模式多样,可任意选择满足各种检测要求。采用全反应过程吸光度检测,反应时间 3min、4min、5min、10min 任选,并能满足 1~3 种试剂的添加分析。采用电位感应式检测探针,具有样品针、试剂针,横向、纵向防撞保护功能。加样针采用数字脉冲步进电机驱动,工作精度高,控制准确,故障率低。内装 20 行热敏打印机,与外接中文数字处理系统连接,可实现数据中文管理、中文打印检验结果报告。

【技术指标】

1. 分析能力 最多同时可检测 36 个项目(使用 ISE 时 39 个项目),200 项次/h(使用 ISE 时 300 项次/h)。
2. 样品 2~50 μ l (0.1 μ l 步进),60 个样品位可放置微量样品杯、标准试管,也可直接使用原始管。
3. 试剂 20~350 μ l (1.0 μ l 步进),40 个试剂位全冷藏,能满足 1~3 种试剂添加分析。
4. 反应比色杯 塑质材料,半永久性使用,光径 6mm,(37 $\pm$ 0.1) $^{\circ}$ C 循环式恒温水浴,最终反应液量 180~500 μ l。
5. 光学系统 采用无像差蚀刻凹面光栅,后分光,340~800nm 12 个固定波长。二极管

矩阵检测。吸光度线性 0~3.2A。

6. 系统接口 RS232C,双向通讯功能。

【运行环境】

1. 体积和重量 720mm×720mm×1085mm,190kg。

2. 电源 220V,50~60Hz,1.5kW。

3. 环境温度和湿度 温度 18~30℃,相对湿度 20%~80%。

4. 供排水 离子交换净水装置,49~343kPa,排水口直径≥50mm、高≤100mm,用水量 10L/h。

(二)日立 7060 全自动生化分析仪

【性能特点】

日立 7060 全自动生化分析仪(Hitachi 7060 automatic analyzer)是一台在日立小型生化分析仪中处理能力最大的随机任选式全自动生化分析仪。它具有可同时测定最多 32 个项目(使用 ISE 时 35 个项目)和最高每小时 360 个测试(使用 ISE 时,最多 720 测试)的分析能力。分析方法类型齐全,校准模式多样,可任意选用,满足各种检测要求。试剂全开放能满足 1~4 种试剂的添加分析。采用全反应过程吸光度检测,反应时间 3min、4min、5min、15min 任选,最长可设置长达 150min,能满足各种实验要求和新项目开发的需要。采用静电液面感应式检测探针,适合微量样品采集。样品针和试剂针均具有横向、纵向防撞保护功能。吸量注射器由数字脉冲步进电机驱动,工作精度高,控制准确,故障率低。同时具有样品预稀释和校准液分级稀释以及改变样品量(增或减)自动再测试功能,并能自动检测空白反应杯吸光度,异常时加强清洗或自动超越或自动停机。与外设中文数据处理系统连接,可实现数据中文管理、打印中文检验结果报告。

【技术指标】

1. 分析能力 最大同时测定 32 个项目(使用 ISE 时,35 个项目),360 项次/h(使用 ISE 时,720 项次/h)。

2. 样品 3~50 μ l(0.1 μ l 步进),115 个样品位可放置微量样品杯、标准试管,也可直接使用原始管。

3. 试剂 50~350 μ l(1.0 μ l 步进),66 个试剂位(33×2)全冷藏,能满足 1~4 种试剂添加分析。

4. 反应比色杯 塑质材料,半永久性使用,光径 6mm,循环式恒温水浴(37±0.1)℃,最终反应液量 240~500 μ l。

5. 光学系统 采用无象差蚀刻凹面光栅,后分光,340~800nm 12 个固定波长。二极管矩阵检测。吸光度线性 0~3.2A。

6. 系统接口 RS232C,双向通讯功能。

【运行环境】

1. 体积 1030mm×760mm×1170mm(不含 CRT、键盘操作单元)。

2. 电源 220V,50~60Hz,2kW。

3. 环境温度和湿度 温度 18~30℃,相对湿度 45%~85%。

4. 供排水 离子交换净水装置,49~343kPa,排水口直径≥50mm、高≤100mm,用水量

20L/h。

(三)日立 7170A/7170S 全自动生化分析仪

【性能特点】

日立 7170A/7170S 全自动生化分析仪(Hitachi 7170A/7170S automatic analyzer)是日立中型生化分析仪中处理能力最大的两台随机任选式生化分析仪。两台的主要差别在于 7170S 带有条形码识别系统,7170A 则为选购件。它们具有同时测定最多 86 个项目(使用 ISE 时,最多 89 个项目)和最高每小时 800 测试(使用 ISE 时,最高 1200 测试)的分析能力。触摸式显示屏或全键盘操作任选。对试剂、样品的需求量大幅度降低,节省试剂成本是此类仪器一大特点(比色杯最小反应体积仅 150 μ l)。分析方法类型齐全,校正模式多样,可按需选用。试剂全开放,能满足 1~4 种试剂的添加分析。采用全反应过程吸光度检测,反应时间 3min、4min、5min、10min、15min、20min 任选。采用静电液面感应检测单探针,适合微量样品采集。样品针、试剂针,均具有横向、纵向防撞保护功能。独特设计的吸量注射器由数字脉冲步进电机驱动,控制精确,加上脱气装置,吸量精度高,故障率低。同时具有样品预稀释,校准品分级稀释以及增或减样品或稀释后自动再测试功能。对急查样品可随插随检,最短 5min 内可打印出 8 项检验结果报告,也可指定急查样品自动复测。能自动检测空白反应比色杯吸光度,自动超越异常反应比色杯,发生连续异常时可显示杯号。此外,尚具有瞬间停电保护功能。与外接中文数据处理系统连接,可实现数据中文管理、打印中文检验结果报告。

【技术指标】

1. 分析能力 最多同时检测 86 个项目(使用 ISE 时,89 个项目),800 项次/h(使用 ISE 时,1200 项次/h)。
2. 样品 2~50 μ l(0.1 μ l 步进),167 个样品位,可放置微量样品杯、标准试管,也可直接使用原始管。
3. 试剂 20~270 μ l(1.0 μ l 步进),90 个试剂位(45 $\times$ 2)全冷藏,能满足 1~4 种试剂添加分析。
4. 反应比色杯 塑质材料,半永久性使用,光径 5mm,(37 $\pm$ 0.1) $^{\circ}$ C 循环式恒温水浴,最小反应体积 150 μ l。
5. 光学系统 采用无象差蚀刻凹面光栅,后分光,340~800nm 12 个固定波长。二极管矩阵检测。吸光度线性 0~3.2A。
6. 系统接口 RS232C,双向通讯功能。

【运行环境】

1. 体积 分析仪:1380mm $\times$ 773mm $\times$ 1165mm;操作台:650mm $\times$ 752mm $\times$ 1360mm。
2. 电源 220V,50~60Hz,2kW。
3. 环境温度和湿度 温度 15~32 $^{\circ}$ C,相对湿度 45%~85%。
4. 供排水 离子交换净水装置,49~343kPa,排水口直径 $\geq$ 50mm、高 $\leq$ 100mm,用水量 35L/h。

(四)日立 7600-20 全自动模块组合式生化分析仪

【性能特点】

日立 7600-20 是日立全自动模块组合式 7600 系列生化分析仪(Hitachi 7600 module as-

sembly type automatic analyzer)中的一种型号。7600 系列生化分析仪主要由共同的操作单元、作为系统支柱的“核心”、两种不同类型的分析模块(类型和数量可任选)、用户任选的组合(转角)单元、电解质分析单元、样品条形码阅读单元等构成。操作单元由计算机、彩色 CRT(带触摸屏)、键盘和打印机组成。“核心”单元是系统的支柱,通过运输线将待测样品装载台上的样品架输送到分析模块,再将分析完成的样品架输送到废弃样品装载台,其中需要复检的样品架则通过等待复测样品缓冲部件再输送到分析模块。分析模块有 D 型和 P 型两种。D 型模块是一种 4-测试、半-随机进入型模块,适用于大样品量的常规项目测试。反应监测时间固定为 10min。最高测试速度可达 2 400 项次/h。P 型模块是一种完全随机进入型模块,适用于样品量较少的多项目测试。反应监测时间 3min、4min、5min、10min、15min、20min 任选。其最大测试速度为 800 项次/h。分析模块的类型可根据需要任意选择组合,具有高度的灵活性。7600-20 就是一台由两个 P 型分析模块和操作单元、“核心”、待测样品装载台、废弃样品装载台、等待复测样品缓冲部件等构成的全自动模块组合式生化分析仪。它们之间由配备 Windows NT 软件的操作计算机与各单元多个 CPU 通过 Ethernet 网连接。当需要进一步扩增分析能力时,只需增加分析模块即可。

该仪器采用随机存取方式,多分析模块之间的样品测试项目和测试样品量由操作计算机设定,智能控制,均匀分配(或单模块工作),实现高效、高速度测试。在光学系统、温控系统、机械系统、数据处理系统等方面均采用了当今日立生化分析仪上已成功应用的先进技术。分析方法类型齐全,校准模式多样,并具有自动样品预稀释、急等优先、全反应过程实时吸光度监测、实时质控、异常反应监控、自动复检、条形码识别等齐全的功能。通过日期、时间设定,可在指定工作日定时将电源接通,实现在无人操作状态下一体化程序的启动和处理。也可设定仪器在常规测试结束时自动进行反应杯清洗和切断电源。

触摸式显示屏或键盘操作任选。RS232C 标准双向通讯接口,与外设中文数据处理系统连接,可实现数据中文管理、中文打印检验结果报告。

【技术指标】

1. 分析能力 最多同时测定 86 个项目,1 600 项次/h(不含 ISE)。
2. 样品 2~35 μ l(0.1 μ l 步进),300 个样品位(样品架式 60 $\times$ 5)。
3. 试剂 20~270 μ l(1.0 μ l 步进),180 个试剂位(45 $\times$ 2 $\times$ 2),全冷藏,能满足 1~4 种试剂添加分析。
4. 反应比色杯 UV 塑质材料,半永久性使用,光径 5mm,循环式恒温水浴(37 $\pm$ 0.1) $^{\circ}$ C,最小反应液体积 150 μ l。
5. 光学系统 采用无象差蚀刻凹面光栅,后分光,340~800nm 12 个固定波长。二极管矩阵检测。吸光度线性 0~3.2A。
6. 系统接口 RS232C,双向通讯功能。

【运行环境】

1. 体积和重量 3 600mm $\times$ 1 100mm $\times$ 1 165mm,1 050kg(不含操作单元)。
2. 电源 220 $\pm$ 20V,50~60Hz,6.0kW。
3. 环境温度和湿度 温度 15~32 $^{\circ}$ C,相对湿度 45%~85%。
4. 供排水 离子交换净水装置,用水量 35L $\times$ 2/h。

四、Cobas Integra 700 全自动生化分析仪

Cobas Integra 700 全自动生化仪(Cobas Integra 700 automatic analyzer)是罗氏(Roche)公司近年来推出的新产品。罗氏公司1890年创办于瑞士巴塞尔。1980年制造了Cobas Bio离心式自动生化分析仪,具有操作简易,样品及试剂用量少,分析程序灵活等优点。1985年罗氏公司又在Cobas Bio的基础上推出两台更先进的生化分析仪——Cobas Fara和Cobas Mira。Cobas Fara除保留Cobas Bio的优点外,更具有三维加样;多功能格架处理样品及试剂;高识别微机处理不同装置,程序设计更具有灵活性等特点。Cobas Mira是比Cobas Fara略小的随机式自动生化分析仪。其设计大部分与Cobas Fara相同。1992年在Cobas Mira的基础上精益求精又推出了Cobas Mira Plus全自动随机式生化分析仪。除具备Cobas Mira的一些优点外,其设计更先进、灵活,性能更可靠,使用更简便、安全。下面重点介绍Cobas Integra 700全自动生化分析仪。

【性能特点】

Integra 700是一台将光度分析法、透射比浊法、荧光偏振法和离子选择电极法4种分析技术集合于一体的分立式任意型自动生化分析仪。它可将酶类和底物类的化学分析,电解质(Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 、 Li^+)的离子选择电极法分析,特定蛋白的免疫透射比浊分析,药物、甲状腺激素的荧光偏振分析集中在一台仪器上同时进行测定,从而提高实验室的工作效率。

该仪器具有自动启动功能并实施大部分日常保养,使仪器随时处于良好的待机工作状态,提高了实际使用效率。在试剂装载上设计了具有条形码的独特卡式试剂盒,便于识别(项目、批号及有效期)、调配、使用和监测,令工作流程更流畅。加样系统一次可放置5个样品架,150个样品,并可连续接受新的样品。同时具有样品预稀释和分析后稀释再测试功能,前者对特定蛋白测定(一般对样品需预稀释)更具效率,对已知超出线性范围的样品可减少再次测试所需的时间和成本。对急诊样品可优先处理。在系统保养方面,能自动记录保养工作的资料,具有到期保养提示功能。同时配有调制解调器(modem)诊断程序,可进行远距离遥控诊断,迅速有效地解决问题。通过罗氏全面服务信息系统(Roche comprehensive information system, COSIS),更可容许罗氏全球网络的客户支援人员,服务工程师及科学家等互相探讨、交换信息。

【技术指标】

1. 分析能力 采用4种分析技术,最多可同时检测72种项目,600个项次/h,加电解质每小时可达855个。
2. 样品 一般测试2~10 μl , ISE 97 μl (直接法)、20 μl (间接法)、20 μl (尿液)。可采用原始样品管(条形码自动识别)或Cobas微量样品杯。
3. 试剂 可同时放置68个试剂盒,8℃冷藏,自动条形码识别。
4. 反应比色杯 可贮备3000个可弃置比色杯,自动装入反应室和移走99个比色杯。反应体积120~240 μl ,光径5mm,37℃热空气恒温。
5. 吸光度分析模块 光源100W卤素灯,单光栅和二极管阵列分光,340~800nm 12个固定波长,单双波长测量,吸光度测量范围0~2.0A。
6. 荧光偏振分析模块 激发波长485nm,发射波长515nm,荧光偏振2s平行,2s垂直。

7. 电解质分析模块 离子选择电极,血清(血浆)直接法或间接法(1:6 稀释),尿液(1:6稀释)测量周期 42s。

8. 数据处理 32bit CPU,64Mb RAM,2GB 硬盘,3.5 英寸磁盘驱动器(1.44Mb),17 英寸彩显,HP Laser Jet 打印机。

【运行环境】

1. 体积和重量 1 445mm × 1 155mm × 800mm,420kg;数据处理台:1 010mm × 545mm × 690mm。

2. 电源 200 ~ 250V,50 ~ 60Hz。功率消耗:仪器 1 400W,数据站 600W。

3. 供排水 去离子水 > 0.6Ω/cm 或 < 15μs/cm,供排水每小时 5 ~ 7L。

五、Beckman Coulter Synchron 系列全自动生化分析系统

贝克曼库尔特公司系 1997 年 10 月由原贝克曼(Beckman)与库尔特(Coulter)公司合并组成。贝克曼公司创立于 1935 年,具有 60 多年悠久历史,总部设在美国加州,一向以生产和销售临床化学分析仪器驰名于国际。其技术支持和售后服务网络遍布全球。营销达 120 多个国家。库尔特公司则是以生产和销售血液学检验仪器为主的另一家国际驰名公司。

20 世纪 90 年代以来,贝克曼推出了 Synchron CX 系列全自动生化分析仪,包括 CX3、CX4、CX5、CX7 等。每个型号仪器都具有独特的性能供用户选择使用。

CX3 可同时任意选择测定钾、钠、氯、二氧化碳、钙、肌酐、葡萄糖及尿素氮 8 个项目。样品只需 122μl,测定时间小于 1min,每小时可提供 600 个测定结果。

CX4 可同时任意选择测定 24 个项目,包括酶、代谢物、特定蛋白及药物。样品量 3 ~ 26μl,试剂量 200 ~ 300μl,每小时可提供 225 个测定结果。

CX5 可同时任意选择测定 25 个项目,包括酶、代谢物、特定蛋白、药物及电解质(钾、钠、氯、二氧化碳)。样品量光度法测定 3 ~ 26μl,电解质测定 69μl。试剂量 200 ~ 300μl,每小时可提供 522 个测定结果。

CX7 可同时任意选择测定 33 个项目,包括普通生化、电解质、急诊项目、特定蛋白、药物和毒品检测。样品量 3 ~ 69μl,试剂量 200 ~ 327μl,每小时可提供 900 个测定结果。

Synchron 系列全自动生化分析系统则按模块组合式设计。根据需要可将各种型号的全自动生化分析仪巧妙地组合起来,通过 Inter Link 微处理机连接,再配以先进的软件设计,可进一步扩展仪器对数据的贮存、记忆和处理功能。Inter Link 微处理机可同时连接 3 台仪器,包括 Synchron 系列及其他仪器。由微处理机作为控制中心。下面重点介绍在当前具有代表性的四种型号 Synchron 系列全自动生化分析系统。

(一)Synchron Lx20 全自动生化分析系统

【性能特点】

1. Lx20 全自动生化分析系统的最大特点是能直接与自动化样品前处理系统连接,从而使实验室繁琐的样品前处理变得轻松自如,在减少人力的同时,最大限度地避免了人为错误,保证测定结果的准确性。

2. 进样系统 采用灵巧直线形的样品架,以不同颜色标识各种用途。具有放置原始管条形码识别功能,并且原始管和样品杯可以按需混合使用,自动进样。吸样针能随时检测到样品中吸入的微小凝块。一旦发生这种情况,会立即弃掉该样品,清洗样品针后再自动吸

样,以避免吸样不准导致测定结果的偏差。

3. 光学系统 光源采用长寿命闪烁氘灯,无需保养和更换。单色器为衍射光栅,可使用多波长检测,最多可同时使用 10 个波长。通过多波长对不同干扰物的检测,经过计算后可将干扰减少到最低程度,使测定结果更为准确。同时具有血清外观检测功能,可以提示所检样品受溶血、脂血、黄疸影响的程度。

4. 反应系统 采用高质量石英玻璃反应比色杯,反应盘处于免保养的恒温系统之中。

5. 电路系统 以先进的智能触模块(每一模块相当于一台微机加载不同功能的软件)代替普通电路设计,消除了电子干扰。功能相近的模块可以互换,便于维修。仪器内部以光纤替代普通电缆,使电信号更为稳定,数据的传送速度更快。

6. 数据管理系统 运用数字技术提供给实验室最便捷的计算机界面。除了有效管理庞大的有关样品、试剂测定及测定结果的所有参数的数据库外,还具有直接与自动样品前处理运送系统连接的功能,为实现实验室自动化提供了基础。

7. 操作通讯系统 窗口式界面可同时以触摸屏、鼠标和键盘进行操作,灵活方便。具有单向、双向和智能双向通讯功能,可直接与中文计算机系统连接及时获取中文检验结果报告。附带调制解调器,可进行远程诊断和维修服务。

8. 试剂系统 公司可提供近 80 个检测项目的配套试剂,包括治疗药物监测和毒物检测。试剂盒带有条形码,试剂信息由条形码阅读器扫入仪器,消耗情况由计算机统一管理。

【技术指标】

1. 分析方法 包括光度分析、离子选择电极(ISE)、导电电极、糖氧化电极和比浊。

2. 分析项目 包括 30 个标准项目、5 个 ISE 项目、6 个模块检测项目,最多可同时测定 41 个检测项目。试剂贮存温度为 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 。

3. 分析速度 最大 1 440 项次/h。

4. 检测器 为硅二极管阵列,接收 340nm、380nm、410nm、470nm、520nm、560nm、600nm、650nm、670nm、700nm 波长,带宽 5nm,比色杯光径 5mm。

5. 校准类型 1 点、2 点、多点定标。线性和非线性曲线拟合。

6. 样品管理 有 140 个样品放置位,可连续装载,自动识别多种标准条形码。样品量最小为 $3\mu\text{l}$ 。

7. 反应盘温度 光电比色法(37 ± 0.1) $^{\circ}\text{C}$ 。其他单元温度为 37°C 和 41°C ,视方法而定。ISE 法为室温。

【运行环境】

1. 主机体积和重量 $1\,524\text{mm}\times 1\,778\text{mm}\times 1\,041\text{mm}$,735kg。

2. 电源 220V,50~60Hz,14A(不包括峰值电流)。

3. 供水 峰值流量 0.2L/min,连续流量最小 16L/h。

4. 环境温度和湿度 温度 $18\sim 32^{\circ}\text{C}$,相对湿度 10%~85%。

(二)CX9ALX 全自动生化分析仪

【性能特点】

1. 主机可直接与样品分选、输送系统连接,有利于实现实验室自动化。

2. 光学系统 光源采用长寿命闪烁氙灯,光栅后分光,二极管矩阵检测 340 ~ 700nm 10 个固定波长。采用多波长比色以消除样品中干扰物对测定结果的影响。

3. 具有严格的比色杯冲洗后自检系统,确保比色杯洁净,符合光度法检测要求。

4. 兼备 9 项急诊生化项目(钾、钠、氯、二氧化碳、葡萄糖、尿素氮、肌酐、钙及总蛋白)检测功能。仪器 24h 待命,ISE 校正曲线的稳定性长达 24h,可随时接受急诊样品。

5. 具有人工智能双向通讯功能,可自动向中央计算机索取所需的测试资料。分析完成后可将测定结果实时输送到中央计算机及其他与主机连接的微机。

6. 检测项目齐全,拥有原装配套试剂近百种,包括治疗药物监测和毒物监测,达到一机多用。

【技术指标】

1. 分析项目 包括普通生化、电解质、急诊项目、特定蛋白、治疗药物和毒品等,可同时最多分析 33 个项目。

2. 分析速度 最大 900 项次/h。

3. 样品用量 光度法 3 ~ 25 μ l; ISE 法 5 项总量 69 μ l。

4. 样品位置 由待命状态到启动时,可同时容纳 63 个样品,一旦开始运行,可连续加入样品,无需停机。

5. 试剂用量 200 ~ 327 μ l,不包括电解质和急诊项目试剂。

6. 反应温度 30℃或 37℃。

【运行环境】

1. 主机体积和重量 1 760mm × 1 680mm × 770mm, 516kg。

2. 电源 120/240V, 50 ~ 60Hz。

3. 用水量 不超过 15L/h。

4. 环境温度和湿度 温度 18 ~ 30℃,相对湿度 10% ~ 85%。

(三) CX3 Delta 全自动生化分析仪

【性能特点】

1. 本机特别适用于急诊生化检验,52s 内可完成钾、钠、氯、二氧化碳、葡萄糖、尿素氮、肌酐、钙及总蛋白等 9 项急诊生化检测结果。

2. 电解质测定采用间接 ISE 法,结果正确,电极寿命长。

3. 校准曲线稳定时间长达 24h,试剂耗量少,经济方便。

4. 高质量的原装浓缩试剂,配以自动稀释系统,保证测定结果准确稳定。

5. 灵活性高,可按照不同需要编辑以上 9 项急诊生化项目中的任何项目。在作常规样品检测时,可随时停止常规样品,优先测定紧急样品。

6. 先进的软件设计,配合采用原始管和条形码功能,使整个测试流程一气呵成。

【技术指标】

1. 分析速度 每小时可处理 75 个样品,提供 675 项次测试结果。

2. 样品位置 每个转盘能放置 42 个样品,并具有连续加样功能。可预编 420 个样品检测程序及 2 000 个条形码预编程序。

3. 检测范围 见表 1-3。

表 1-3 CX3 Delta 检测范围

	血清/血浆	尿液	脑脊液
钾 (mmol/L)	1 ~ 15	2 ~ 300	
钠 (mmol/L)	100 ~ 200	10 ~ 300	
氯 (mmol/L)	50 ~ 200	15 ~ 300	50 ~ 200
二氧化碳 (mmol/L)	5 ~ 40		
钙 (mmol/L)	0.50 ~ 3.88	0.50 ~ 3.88	
葡萄糖 (mmol/L)	0 ~ 25	0 ~ 25	0 ~ 25
尿素氮 (mmol/L)	0 ~ 53.6	0 ~ 53.6	
肌酐 (μmol/L)	0 ~ 2 210	0.88 ~ 35.36	
总蛋白 (g/L)	30 ~ 120		0.1 ~ 7.5

注：其中葡萄糖和尿素氮具有超范围复检功能，葡萄糖检测上限可扩大到 50.0mmol/L；尿素氮检测上限可扩大到 107.2mmol/L。

六、Dimension® 系列全自动生化分析系统

美国德灵公司(Dade Behring)是一家专业研制、生产和销售临床诊断产品的公司,其产品遍及临床生化、血浆特定蛋白、微生物、血凝、心肌梗死诊断、传染病诊断、药物浓度监测和毒品检测八大领域。德灵公司在全球 43 个国家和地区设有分支机构,并于 1998 年在上海建立中国区技术服务中心,2000 年成立德灵诊断(上海)分公司,又相继在北京、广州和南京建立办事处或联络中心。

德灵公司的生化产品来自历史悠久的、曾于 1968 年生产出世界第一台随机进样自动生化仪的杜邦(Dupont)诊断公司。杜邦诊断公司在 1996 年加入德灵公司后,更是加强了产品性能、自动化系统和新产品的开发力度,近年来其生化仪的装机量始终在美国名列第一。著名的 Dimension® 系列生化分析系统,自 20 世纪 90 年代以来相继推出了 AR、XL、R_xL、AR_x 和 R_xL-HM 诸多型号,以满足不同的需求。Dimension® 生化仪以其独创的环保理念涵盖常规生化、电解质、酶、心肌梗死诊断、甲状腺功能、药物浓度监测和毒品检测等检测项目菜单,以及准确、方便、快速和经济的特点,深得临床实验室的喜爱。

(一) Dimension® R_xL-HM 全自动生化分析系统

【性能特点】

1. 采用杜邦专利技术制作的全封闭抛弃型反应杯,去除了复杂的冲洗系统,大大减少了蒸馏水的消耗,既经济又安全,同时彻底免除了长期困扰着生化仪使用者的反应杯交叉污染问题。

2. 电解质系统采用高科技生物晶片技术制作的 IMT 电极,将传统复杂的 K⁺、Na⁺、Cl⁻ 电极整合于一块灵巧的电极块上,简单而便于装卸,其最大的特点是无需任何的日常保养,样品量少,只需 45μl。

3. 非均相免疫测定模块(HM 系统),赋予生化仪更广阔的检测范畴。对同一个生化样品管,可随意增加 TSH、FT₄、HCG、PSA 等检测项目,即无需分杯、无需更多的仪器投入,以最简单的方式完成更多的检验项目,从而真正达到一机多用。

4. 任选 IMS 模块,试剂通道 92 个。可以随时添加的 IMS 模块,更符合检验科发展的需要。

5. 独具自动连锁式测试和任意自定义超范围复检功能。此功能可以令使用者随意

设定某个项目, 当其检测结果超过某范围时, 自动进行相关项目的检测, 或设定为自动重做。

6. 独特的 Flex 试剂盒设计, 一个试剂盒由 6~8 个独立的试剂仓组成, 不同的试剂仓放置不同测试量试剂, 以最灵活的方式, 帮助用户避免使用过程中的试剂浪费, 延长了上机试剂的有效期。试剂无需任何手工预处理, 且可在仪器运行中随时添加。同批号试剂的定标有效期长达 3 个月。

7. 具备 X-Link 装置, 可进行远程诊断。

【技术指标】

1. 检测速度 788 项次/h。
2. 电解质 IMT 电极, $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-/\text{CO}_2$, 出结果时间 48s。
3. 检测项目 超过 80 项, 含非均相免疫项目。
4. 急诊 随时急诊插入。
5. 试剂通道 标准配置 48 个。
6. 试剂 Flex™ 试剂盒包装, 每个试剂盒含 6~8 个试剂仓, 试剂量从 15~240 个测试不等。
7. 试剂装载 运行中随时装卸。
8. 定标有效期 最长达 3 个月。
9. 样品方式 原始管条形码、样品杯随意放置。
10. 样品量 2~60 μl 。
11. 自动样品稀释 用户自定义稀释倍数, 血清和尿液标本自动前稀释。
12. 样品重做和连锁测定 自动重检, 自定义自动连锁测试项目。
13. 反应杯 自动机内制作。
14. 光源 卤素灯, 运行时能量最强, 待机时能量最弱。
15. 波长 293~700nm, 10 个波长。
16. 比色方式 双波长, 采用 Alan 方法校正, 以去除干扰。
17. 反应温度 37℃, 空气浴。
18. 远程诊断 X-Link 装置。
19. 数据传输 Host Query 双向通讯。

【运行环境】

1. 体积和重量 1 590mm×1 120mm×770mm, 36kg。
2. 电源 220V, 50Hz。
3. 环境温度和湿度 温度 18~24℃, 相对湿度 20%~80%。
4. 水消耗量 最大 3.2L/h(去离子水)。

(二) Dimension® AR 全自动生化分析系统

【性能特点】

除检测项目(不含非均相免疫项目)略少、检测速度略低于 RxL-HM 以及专用试剂通道与开放试剂通道并存外, 其他性能特点基本上与 RxL-HM 相同。

【技术指标】

1. 分析速度 540 项次/h。

2. 检测项目 超过 60 项。

其他技术指标与 RxL-HM 相同。

【运行环境】

1. 体积和重量 1 270mm × 1 400mm × 770mm, 273kg。

2. 电源 220V, 50Hz。

3. 环境温度和湿度 温度 18 ~ 29℃, 相对湿度 20% ~ 80%。

4. 水消耗量 最大 2L/h(去离子水)。

七、Abbott Aeroset TM 和 Alcyon 300 自动生化分析仪

Aeroset 和 Alcyon300 是美国雅培(Abbott)公司推出的两种全自动生化分析仪。Aeroset 为一大型机,在对样品同时进行化学光度法和电位法分析时,其最大分析速度可达到 2 000 项次/h。Alcyon 300 则是一台小型台式全自动生化分析仪。

(一) Aeroset 全自动生化分析仪

【性能特点】

本仪器集“更快速”、“更灵活”、“更高智能”于一体,它采用双重的硬件系统和丰实的软件再配合新颖的技术,使其独特的 7 个特征得以充分发挥。

1. 样品处理系统 由快速轨道与样品圆盘紧密配合组成灵活自如的双重采样系统。快速轨道可同时容纳 200 个样品,采用一臂双针采样,样品量分别控制,适用于 5ml、7ml、10ml 原始采血管(含条形码扫描)和样品杯。同时有自动重检和自动稀释功能。备用样品圆盘可同时放置 31 个样品,作为急诊处理,其中一个紧急样品位置可提供最优先测试。带冷藏的定标/质控盘有 45 个位置,可随时随机运行定标或质控。

2. 试剂供应系统 各有 56 个大容量双试剂通道及 opencode TM 二维试剂条形码技术。内外两圈组成的试剂盘可独立旋转。配合试剂双针采样,达到高效率。试剂随机冷藏,用后的剩余量以测试数和图示直观显示。棋盘式的二维试剂条码,其数据贮存量是普通条码的 6 倍,并有纠错功能。20ml、55ml、90ml、100ml 各种规格试剂及浓缩试剂可满足不同需要。

3. 反应及清洗系统 330 个 5mm 光径石英玻璃反应杯,无需日常更换,最小反应容量仅需 160 μ l。37℃水浴恒温加热迅速均匀,采用流动活水及防腐剂,防止细菌生长。清洗系统采用 3 种溶液 8 步骤清洗,确保反应杯彻底洗净。对有交叉污染的项目,可单独用 1 ~ 3 种清洗液对试剂针、样品针和反应杯进行补充清洗。采用电流方式的晶体压电搅拌混匀技术,均匀无气泡,令结果更为准确可靠并减低噪音。

4. 电解质分析系统 采用离子选择电极技术测定 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 的复合式电极晶体,将 3 项分析融为一体,结构紧凑,更换方便无需保养,这种非流动池分析方式,无阀门,不需蠕动泵,亦无需用试剂冲洗而降低成本。采用间接电位法测试,24 倍稀释,样品量仅需 15 μ l。

5. 操作控制系统 采用 17 英寸触摸式大屏幕彩显。项目设定指令,系统运转情况,试剂存量以及各种操作过程均以不同的标记和色彩显示,一目了然,指点操作更为简便和直观。

6. 软件设计 包括全反应过程、反应进程曲线监控、多种质控设计方式和图像显示、样品质量检查、预设自动开/关机时间及自动保养等,进一步提升了产品性能。

7. 最佳样品选择程序(OSSTM)、酶线性范围扩展功能(FlexRate™)以及内外圈反应杯线性平衡(LBTM)的独特设计,既提高了分析速度又提高了分析准确性。

【技术指标】

1. 分析能力 最多可同时检测 56 个项目,1 600 项次/h,加电解质每小时可以达 2 000 项次。

2. 样品 2~35 μ l,对于需要稀释的样品、稀释液和水的体积之和不少于 100 μ l。

3. 试剂 有 2 个试剂供应中心,每个中心可放置 56 个试剂盒 8℃冷藏。试剂用量 20~345 μ l。

4. 反应杯 5mm 光径石英玻璃杯,内外两圈共 165 对,37℃水浴恒温,最小反应液体积量 160 μ l。

5. 光学系统 卤素钨灯凹面衍射光栅,340nm、380nm、404nm、412nm、444nm、476nm、500nm、524nm、572nm、604nm、628nm、660nm、700nm、748nm、804nm 15 个固定波长。吸光度测量范围:0~3.0A。检测器为双硅管。

【运行环境】

1. 体积 1 890mm×1 120mm×1 105mm。

2. 电源 220V,50~60Hz,功率消耗 3kW。

3. 温度和湿度 温度 15~32℃,相对湿度 45%~80%。

(二)Alcyon 300 全自动生化分析仪

【性能特点】

Alcyon 300 是一台以小、快、灵为其特色的台式全自动生化分析仪。

1. 结构紧凑体积小,重量轻。

2. 设计新颖快速灵活,测试速度、光度分析可达 300 项次/h,电解质分析 K⁺、Na⁺、Cl⁻ 3 项可达 450 项次/h,3~6min 即可出第一个结果。

3. 各项功能齐全,可预编 83 个测试程序和 13 项计算结果,具有自动稀释、自动重检、相关重检功能及自动保养程序。

4. 操作系统采用彩色触摸式显示屏及内置式键盘操作,全反应过程监控。

5. 加样系统有 39 个样品位,随意放置常规、急诊样品,定标液和质控液。可用 5ml、7ml、10ml 原始管或样品杯,条形码扫描。

【技术指标】

1. 样品 仅需 2~30 μ l,不精密度 <1.3%。

2. 试剂 双试剂有 24 个位置,其中 15 个冷藏,9 个常温。试剂量 180~388 μ l,不精密度 <1.2%。

3. 反应比色杯 12×19 组共 228 个 5mm 光径反应杯,30℃或 37℃热空气恒温。同时具有自动测试杯空白和自动提示装载功能。

4. 光学系统 静态光纤传导系统,340nm、380nm、405nm、500nm、550nm、660nm 6 个固定波长。

5. 数据处理 2.1GB 硬盘 4M 内存,可贮存 120 万份患者资料,RS232 双向标准接口可与外部计算机连接。

【运行环境】

1. 体积和重量 740mm×660mm×610mm,95kg、

2. 电源 220V,50 ~ 60Hz。