

现代实验客观化诊断

主编：陈雨振 张凤花 孟莉

(下册)

西安地图出版社

现代实验客观化诊断

(下册)

主 编:陈雨振 张凤花 孟 莉

西安地图出版社

图书在版编目(CIP)数据

现代实验客观化诊断/陈雨振 张凤花 孟 莉编著. —西安:西安地图出版社, 2006. 8

I SBN 7—80670—969—X

I. 现… II. 陈… 张… 孟… III. 诊断学 IV. R44

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 091092 号

现代实验客观化诊断

陈雨振 张凤花 孟 莉编著

西安地图出版社出版发行

(西安市友谊东路 334 号 邮政编码:710054)

新华书店经销 济南康如印务有限公司

开本:889×1194 毫米 1/16 22 印张 550 千字

2006 年 8 月第 1 版 2006 年 8 月第 1 次印刷

印数:0001—1000 册

I SBN 7—80670—969—X/R · 18

定价:98.00 元(上、下两册)

内 容 提 要

本书以临床实验为中心,介绍临床血液学、体液和分泌液、化学实验、免疫学实验、微生物实验对疾病的病因、病原、病情、治疗及预后的临床意义,为临床医师准确判断实验结果、分析病情、探讨疾病的发生与发展提供客观的依据和基础。并对实验医学自动化进行了详述。

《现代实验客观化诊断》是一部临床教学和科研不可多得的参考书。可作为临床医师进行临床工作、实验诊断学和继续教育的参考书。

目 录

现代实验客观化诊断(下册)

第七章 实验自动化进展	(347)
第一节 实验室自动化系统	(347)
第二节 实验室自动化系统的基本概念和特点	(353)
第三节 实验室自动化系统的基本组成	(357)
第四节 实验室自动化的基本类型	(366)
第五节 实验室自动化系统展望	(370)
第六节 POCT 技术	(371)
第七节 基因自动检测的芯片技术	(376)
第八节 无创性实验诊断技术及其应用	(384)
第八章 自动血液和体液分析	(402)
第一节 自动血细胞分析原理方法	(402)
第二节 自动血细胞分析的进展	(405)
第三节 血细胞分析仪的临床应用	(408)
第四节 网织红细胞自动化分析与临床应用	(410)
第五节 自动血凝分析及其应用	(413)
第六节 分析方法与原理	(413)
第七节 自动血凝分析的进展	(415)
第八节 自动血凝分析的临床应用	(416)
第九节 血小板功能	(422)
第十节 血小板止血功能实验的常用方法	(424)
第十一节 流式细胞术测定血小板功能及其应用	(430)
第十二节 流式细胞分析	(440)
第十三节 自动干化学尿液分析仪的原理	(454)
第十四节 干化学尿液分析仪质量控制	(458)
第十五节 自动尿沉渣分析及应用	(459)
第十六节 自动精液分析及应用	(461)
第九章 自动生化分析	(463)
第一节 自动生化仪的发展史	(463)
第二节 自动化分析仪的光学测定原理	(465)
第三节 自动生化分析仪的结构	(467)

第四节	全反应过程的测光监控	(469)
第五节	自动生化常用分析方法	(470)
第六节	自动生化分析仪的校准方法	(471)
第七节	液体双试剂	(471)
第十章	自动免疫分析	(476)
第一节	自动放射免疫分析	(476)
第二节	自动酶免疫分析	(484)
第三节	荧光免疫分析	(501)
第四节	自动发光免疫	(516)
第五节	自动散射免疫分析	(526)
第六节	自动免疫分析仪的评价	(539)
第七节	自动免疫分析的质量控制	(545)
第十一章	自动微生物分析	(552)
第一节	血培养系统	(552)
第二节	分枝杆菌培养自动化	(556)
第三节	微生物鉴定的自动化及选择和评价	(560)
第四节	抗菌药物敏感试验的自动化	(565)
第五节	自动分子微生物学进展	(569)
第十二章	分子生物学技术的自动化	(572)
第一节	聚合酶链技术的原理和方法	(572)
第二节	PCR 分析研究进展	(578)
第三节	PCR 反应的自动化	(585)
第四节	PCR 分析的临床应用	(586)
第五节	PCR 分析的质量控制	(591)
第六节	DNA 序列测定	(592)
第七节	分子生物学技术的研究进展	(600)
第十三章	实验室自动化管理	(610)
第一节	实验室管理概述	(610)
第二节	临床实验室质量管理制度	(611)
第三节	临床实验中的基本效应	(616)
第四节	重复性实验对精密度的估计	(619)
第五节	定量实验结果可报告范围评价实验	(619)
第六节	准确度性能评价	(621)
第七节	分析干扰实验	(622)
第八节	实验项目的参考范围和参考区间	(624)
第九节	质量控制与质量保证	(626)

第七章 实验自动化进展

第一节 实验室自动化系统

实验室自动化系统 (laboratory automation system, LAS) 是指为了实现临床实验室内某一个或几个检测系统如临床化学、血液学、免疫学等的系统化整合 (integration), 而将不同厂家生产的不同分析仪器与分析前和分析后的实验室分析系统通过自动化和信息网络进行连接的过程。LAS 的基本组成包括 (1) 标本传送系统 (conveyor system) 或传送带 (conveyor belt), 负责标本转运的移动机器人 (mobile robot); (2) 标本处理 (sample handling) 系统, 如标本的自动识别、离心、揭盖、分装; (3) 自动分析仪 (automated analyzer); (4) 分析测试过程控制 (process control) 软件包括分析控制软件 (process control software) 和结果处理的实验室信息系统 (laboratory information system, LIS)。LAS 的目的是将传统由人完成的工作实现自动化, 包括标本处理 (processing specimen) 如标本条形码 (bar code) 的识别、离心 (centrifugation)、揭盖 (decapping)、分装 (aliquotting)、贮存缓冲 (buffering), 标本转运 (transporting specimen), 标本装卸 (loading and unloading), 结果评估 (assessing result) 如自动重试 (automatic rerun or reflex testing) 及对重试标本结果的自动复现 (retrieval) 等。

一、实验室自动化系统的发展史

(一) 三代实验室自动化系统概念的形成

纵观检验医学的发展, 临床实验室的检测可追溯到 50 ~ 70 年前, 在 20 世纪 20 ~ 40 年代的 30 年间, 所有的检测项目从单一的临床化学试验到外周血涂片检查, 都是通过手工完成, 同时需要大量的血清、血浆或全血标本。20 世纪 50 年代的世界工业革命与其自动化的引入带动了临床实验室的变革。例如, 20 世纪 50 年代后期的火焰光度计 (flame photometry) 的问世, 60 年代出现的多通道化学分析仪如泰尔康系统 (Technicon system) 和自动血细胞计数仪 (automated blood cell counter)。Hoffmann 在世界第Ⅷ届自动化与新技术 (Automation and New Technology, ANT) 大会上将临床实验室自动化系统从 20 世纪 50 年代至今的发展变化共分为三代系统。它们分别是:

第一代实验系统 (the first generation of laboratory system) 出现于 20 世纪 50 年代。那时将酶、辅酶、缓冲液等配制成为随时备用 (ready-to-use) 的试剂盒, 其被认为是一个“系统”, 因其使那些试剂配制麻烦的步骤如需精确称重或 pH 调试等的配制过程变得容易和简单化。与此同时, 在 50 年代后期, 随着火焰光度计的问世, 使实验室自动化步入起始阶段。60 年代出现了多通道化学分析仪 (multichannel analyzer), 如泰尔康系统和电子血细胞计数仪如库尔特血球计数 (Coulter counter)。

第二代实验系统 (the second generation of laboratory system) 出现于 20 世纪 70 年代。当时拥有复杂软、硬件的分析仪器的问世, 使手工加样、孵育和测定过程实现了自动化。在此期间, 方法学不断完善, 仪器生产厂家与实验室一起为改善不同仪器对同一标本检测同一项目所得结果的质量包括结果的一致性、可比性、精密度和准确度, 及尽量减少标本测试所需的标本量等方面做了不懈的努力。80 年代初期, 人们开始重视并引入检验周期 (turnaround time, TAT) 的概念, 要求缩短检验周期, 并对分析测试所需标本量进一步减少。同时, 新技术、新方法不断问世, 分析仪器不断更新, 发展到可用全血基质 (whole blood matrix) 作为分析标本进行多项目的检测, 而无需分离血清或血浆。2 ~ 5ml 血样已可得到大量的分析测试结果。

第三代实验室系统 (the third generation of laboratory system) 出现于 20 世纪 90 年代, 实验室系统发

生了划时代的变化,包括分析前 (pre-analytical)、分析中 (analytical) 和分析后 (post-analytical) 的过程实现了自动化流水线 (workflow) 作业,并使过去耗时的标本处理 (sample handling) 和数据处理 (data processing) 等单调、脏、危险的所谓“3D 工作” (dull, dirty, dangerous, 3D) 实现了自动化、一体化。第三代实验室系统的实现,大大提高了实验室效率,使实验室工作人员更集中精力于层次更高的活动,如结果审核 (result validation), 开发新试验、新技术,做更多深入的检查或研究工作等。

(二) LAS 的发展过程

1. 促进 LAS 发展的主要因素

随着基础与临床医学的日新月异,加之基础科学、生物科学及其相关学科和技术的推动,作为检验医学中的重要组成部分 LAS 也迅速发展。主要可能有以下几个方面。

(1) 卫生保健体系的改革

在人类不断地更新并掌握攻克各种疾病的知识和技术时,人们更强调和注重对疾病的早期诊断和预防。单就临床实验室而言,一方面实验室检查项目和数量大量增加。例如,用于普查癌症的肿瘤标志物试验或检查早期骨质疏松 (osteoporosis) 的实验项目和数量大量增加;另一方面,不断出现的新仪器、新技术,促使实验室更新、换代,其结果导致费用的大量增加。1970~1980 年西方国家卫生保健费用呈螺旋形上升。如美国,每年用于各种实验室检测费用占整个卫生保健 (health care) 费用的 30%,其中工资支付每年以 4% 的速率增长,试剂及消耗每年以 10% 的速率增加。各国政府对此引起了高度重视,并采取了相应的改革措施,以限制医疗保健费用的无限制增长并实现人人享有保健。在美国,过去的医院或卫生保健提供者的经费是以为病人服务价格的多少,从政府得到相应的补偿 (reimbursement)。通过卫生保健经费付给方式改革之后,原来的价格服务 (fee-for-service) 补偿机制变为完全补偿模式 (global reimbursement structure),包括诊断相关组 (diagnosis-related groups, DRGs) 或契约机制 (contractual mechanisms),即从原来单一政府付款补偿医疗费用,转交给第三者—保险公司 (insurance company) 或健康维持机构 (health maintenance organization, HMO) 承担,使医院、医生和保险公司三者一起承担健康保健过程中的财经风险,如将某一疾病的诊断、治疗的全部费用以固定的价格由保险公司提供给医院,从而使增加的医疗费用得到有效的控制,也使对实验室的支持经费减少,并促使医生减少对实验室检验的滥用 (overutilization of laboratory test),这一结果便造成实验室间/内的竞争加剧,如何实现以较少的经费达到同样高质量和高效率的服务? 如何完善管理,改变实验室结构和布局以达到上述目的? 这便使人们想到并努力实现 LAS,以减少开支,在竞争中取胜,这可能是实现 LAS 的始动原因。

(2) 实验室技术人员的缺乏

实现实验室自动化的另一重要原因便是当时西方和日本等发达国家面临的实验室技术人员的短缺。例如 20 世纪 80 年代日本的各个医院,尤其是国家公立医学院附属医院实验室人员严重缺乏,在 Sasaki 教授工作的 Kochi 大学附属医院检验科只有 25 名技术人员,每年却要完成 5×10^6 分析测试,与当时的私立医院相比技术人员要少一半以上。又如在美国,80 年代医院的实验室技术人员缺乏数量达 15%,从事细胞学的技术人员缺少 27%,在农村地区此种状况更为严重。另一方面,医院实验室技术人员的工资较其他工业技术人员工资多 2~25 倍,占运作整个实验室经费的 50%。而实现实验自动化,可节约劳动力 50% 以上,显而易见其优越性。实验室技术人员缺乏的一个重要原因是传统的临床实验室内又分为相对独立的各亚专业实验室如临床化学、临床微生物学、血液学、免疫学等。其人员数固定,各自都需要管理人员,这无疑会造成对技术人员劳动力的大量浪费,一旦将相关联的实验室合并 (consolidation) 会大大节约劳动力,提高实验室工作效率。

(3) 分析仪器更新与新技术的不断问世

临床实验室工作量增加同各种新技术新方法和新仪器的不断涌现,疾病诊断治疗手段与水平不断提高密切相关。

从 20 世纪 30 年代单一试管法发展到 50 年代出现二通道化学分析仪、火焰光度计与 Coulter 血球计数仪并服务于临床实验室,就标志临床实验室自动化 (clinical laboratory automation, CLA) 进入了新的

起点。随着 60 年代多通道化学分析仪 (multichannel analyzers) 问世并进一步发展为连续多通道化学分析仪 (SMA), 使 CLA 又向前迈进一大步。70 年代杜邦公司 (DuPont) 推出自动临床化学分析仪 (automated clinical analyzer, ACA) 和全血细胞计数与分类的自动血液分析仪 (automated b100d analyzer, ABA), 使 CLA 又进入一个新台阶。到 70 年代后期, 由于单克隆抗体 (monoclonal antibody, McAb) 技术的问世和成熟, 加上酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA), 放大酶免疫技术 (enzyme - multiplied immunoassay technique, EMIT) 和其他测定特殊蛋白表位 (particular protein epitopes) 技术一起应用于临床, 使临床化学、临床免疫学的抗原抗体分析与临床内分泌学激素分析的自动化分析体系开始融为一体, 如 80 年代初出现的干化学分析仪 Ektachem (柯达公司)。同一时期出现的离子选择电极 (ion - selective electrodes, ISE), 以其快速、特异改变了实验室分析方式, 电解质检测不再需要对全血离心。到 1985 年 ISE 技术取代了几乎所有的火焰光度法检测项目。同时, 以前被认为须用复杂的层析技术 (chromographic technique) 进行治疗药物监测 (TDM), 已被基于 McAb 检测的方法所取代。90 年代, 实验室自动化更着重强调分析过程的简单和结果的快速、准确。这使分析体积越来越小, 操作更容易, 而且可分析的项目越来越多。此时, 实验室仪器自动化变为一个个“自动化单元” (island of automation), 即除了仪器自动化外, 实验室检测的相关过程或步骤却未跟上和实现自动化, 如标本的转送、离心、分装、进入分析仪和实验数据的传送等过程。而新的实验室自动化体系目的就是要将这些各自孤立的自动化单元相互连接成为一个有机的, 相互协调的自动化系统。表 (7-1) 列出了从 50 年代至 80 年代对自动化起主要影响的技术进展。

从 20 世纪 80 年代后期到 90 年代初期, “妊娠试纸条技术” (impregnated tape technology), 亦称为特异性底物技术 (substrate - specific technology), 为后来发展床旁试验 (point of care testing, POCT 或 bedside testing) 奠定了良好的基础。POCT 技术的发展与成熟为临床试验在医生办公室、病房、家庭进行提供了可能性。在一定程度上, 使 POCT 成为医院性实验 (hospital testing), 而不是在实验室进行的实验。例如, 现在的血糖、电解质甚至血气分析均可以一次性试纸条进行检测。在过去 50 年另一令人振奋的技术突破是 DNA 探针 (deoxy-ribonucleic acid probe, DNA probe) 的应用, 其可用于检测致病微生物 (如病毒或细菌) 极微量的遗传物质 (genetic material), 目前 DNA 检测技术在应用原位荧光杂交检测和鉴定遗传性疾病实现了一次飞跃。

表 7-1 影响实验室自动化的主要技术进展

技 术 进 展	出现年代(20 世纪)
连续多通道分析仪 (SMA)	60
自动临床化学分析仪 (ACA)	70
库尔特血细胞计数仪 (ABA)	1957 年
快速离心式化学分析仪 (如 centrifichem)	70
单克隆抗体 (McAb)	70
酶联免疫吸附试验 (ELISA)	70
放大酶免疫技术 (EMIT)	70
偏振荧光免疫分析 (FPIA)	80
特异性离子选择电极 (TSE)	1985 年
特异性底物选择电极 (SSE)	80
治疗药物监测 (TDM)	1985 年
全血细胞计数和分类 (CBC + DC)	70
自动微生物培养系统 (AMCS)	70
自动微生物鉴定系统 (AMIS) (如 Bactek)	70
流式细胞术 (FMC)	70
产色血凝分析	70
试剂条技术	80
DNA 探针	70
原位荧光杂交 (FISH)	80
可视图像分析系统 (IAVS)	80

在支持、推动实现临床实验室自动化的过程中, 最重要的是基础科学的不断创新和发展, 技术方面如特异性离子选择电极、固化酶、DNA 探针的发展和应用于临床, 及实验室技术人员的缺乏等都是推动临床实验室自动化的原因和动力。实际上, 临床医学在对疾病的诊断和治疗过程中, 对各种实验或检测项目的需求不是在缩小。相反, 随着对疾病诊断和治疗新技术的不断问世, 临床对实验室的需求正在不断增加, 例如器官与骨髓移植中心的实验室实验项目大量增加, 包括已有和增加的实验技术, 以监测、证

实和扩大器官与骨髓移植技术的应用。

(4) 改善检验质量和检验周期的需要

20 世纪 80 年代后期,人们已不满足实验室仅显示的实验结果,而是越来越对其结果的质量提高和检验周期(TAT)缩短的重视。美国的一项统计表明,临床实验室的错误率(error rate)与制造业(manufacturing industry)相比高得多。临床实验室的错误率大约为 0.01% 或 100PPM(parts per million),即每一百万个实验结果有 100 个发生错误,而 Motorola(摩托罗拉)公司制造的电话错误率 0.003% 或 3PPM,飞机的出享频率为 0.00003% 或 0.3PPM,可见临床实验室的错误率为 Motorola 公司的 33 倍和飞机出事的 330 倍。而且这种错误率的统计资料来源于实验室能力比对实验(proficiency test, PT),其是反映实验室能力的最佳测试方法。实际上实验室的真正错误率约为 0.22% 或 220PPM,远高于上述结果(100PPM)。当实验室使用自动化后会大大降低该错误率。实验室自动化系统(LAS),由于使用实验室信息系统(laboratory information management system, LIMS),如条形码识别和其他计算机软件系统对标本检测项目及与之相应的标本量、标本编号、标本种类、标本质量如血清是否有溶血、脂血及黄疸等予以确认。条形码系统还可以提供阳性标本编号,使自动化系统对阳性标本进行重复测定。这样以最大程度减少甚至杜绝由于标本编号、转移、运送等环节所引起检测结果错误。同时,结果的精密度、准确度大大提高。而且,便从标本到达实验室起到检验报告发出为止的 TAT 明显缩短,如通过分析仪器将检测数据及对结果可能的解释直接通过电脑和数据传递系统以最快的速度并在最短时内送到临床,从而满足各种临床科室尤其是各种急诊重症监护的需要。

(5) 改善实验室结构和人员的需要

目前,其特征是临床实验室的各亚专业如临床化学、免疫学、微生物学、内分泌学等在人员、空间和管理上相对独立,形成所谓盒子样实验室结构(boxlike structure in laboratory organization)。随着医学和检验医学的迅速发展,检验医学各亚专业的关系越来越密切,检测原理和方法相互融合,如现在的全自动生化分析仪如 Olympus 1000 既可分析单一化学项目— K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- ,也可分析不同的脂类、酶类、蛋白抗体等。又如全自动免疫分析仪 Abbott AxSYM 既可分析各种激素、抗体,也可定量检测各种肿瘤标志物、毒物和进行药物浓度监测,尤其是现在的临床化学、临床免疫学、临床血液学之间的关系更为密切。如果在这种情况下,还是以原有“盒子样实验室”形式存在,势必会造成人力、物力及仪器等的大量浪费,不利于实验室的整体发展。所以,从社会和政府的要求到实验室自身发展的需要,传统实验室的改革和融合势在必行。实验室的合并无论是实验室内(intralaboratory),还是在实验室间(interlaboratory),者可大大提高实验室技术人员和自动化仪器的效率,节约费用,减少开支,增加收入,利于管理,增强竞争力。

新的自动化实验室的模型是基于自动化测定所需基质种类(血清或血浆)所设计的最适标本流水线处理,是基于自动化水平而设计。这两种模型的提出来自仪器制造商,其提出是基于临床实验室检测项目所需的标本类型或标本基质(specimen matrix)如血浆、血清、全血。与传统实验室结构相比,自动化实验室的特点是实验室不同原理和方法的自动分析仪以检测标本的类型不同组装为一条生产线。一条理想的生产线代表其特征是将实验室内不同的标本类型置于不同的生产线,当标本进入标本接收中心时,血糖、血气、离子钙等检测项目立即进行分析,其他标本便通过生产线进入标本处理中心,在那里进行血清/血浆分离并送至自动化学/免疫学分析仪,或将抗凝全血直接送入血细胞分析仪/流式细胞仪。在生产线的末端标本便进入标本贮存处,以便复查或保存。另外的一条生产线可保持实验室内分析仪的整体性和协调性。

在实现实验室自动化系统(ALS)过程中,各生产厂商更加注重仪器维护(instrument maintenance)的效率和质量。ALS 的有效性应包括仪器故障发生率和对 ALS 功能系统维护所需的劳动。以日本为例,自动实验室系统的制造商将 ALS 故障间的平均时间(mean time between failures, MTBFS)定为 3 个月,另一方面,许多临床分析仪都需对其常规吸样和分析进行实时监控,以检查发现其在吸样和分析中出现的错误。仪器制造商为增加仪器的可靠性方面又向前迈出了一大步。例如,气巴康宁(Ciba Corning)

850 型血气分析仪每周仅需进行一次很小的维护,很多较贵重的部件 1 年仅需更换一次。

ALS 的实现,一方面对实验室内技术人员的要求更高。以前那些简单、重复的工作如抽血样品管的揭盖、加样、离心等步骤被自动化所代替,实验室技术人员不仅需要掌握实验检测系统的理论、技术、结果解释及相关的临床知识,而且,需精通计算机、电子仪器,熟悉系统工程(system engineering)、模拟造型(simulation modeling)、人工智能(artificial intelligence, AI), LIS 和对 ALS 常见故障或干扰的排出。对高层实验室人员的要求在原有的基础上也会更高,要求其不仅应具备上述一般技术人员的素质,而且,应具有以下知识和能力。①较高的跨学科综合素质,而不是以前仅有某一专业的能力;②能提供、评价并完成新实验技术;③能进行临床咨询;④能很好地利用和管理实验室资源包括人和物;⑤能娴熟地利用 LIS、POCT 系统;⑥能评价、开发并促进实验室开展新而有用的实验;⑦能改善实验室服务质量等综合素质。另一方面,ALS 的实现,可大量节省劳动力和财务,使原有的富余人员有时间和经费投入开发和科研工作,从而让检验医学领域进入良性循环,并更富有吸引力和活力。

从上述可知,促使 LAS 的因素很多,但最基本和最重要的因素有两个:①临床医生要求增加实验室服务,即要求结果更快、TAT 更短,结果质量更高;②减少实验室费用,即实验室不得不以较少的钱完成同样或更多而且质量更高的实验室服务。其结果是优化实验室服务,合并实验室组合,提高自动化仪器的使用效率,提高实验室人员的素质,以达到社会、医院、广大民众对实验室服务的要求。

2. LAS 的发展历程

(1) 概述

新一代 LAS 主要是指将标本转运、处理和 LIS 同自动分析仪组装成一个完整、有机而全自动的 LAS,即第三代实验室系统。LAS 起始于 1981 年,由日本 Kochi 大学医学院附属医院 Masahide Sasaki 教授与同事历时 6 年创建。Sasaki 教授建立全自动 LAS 或 TLA 的原因是当时他所在的日本公立医学院附属医院实验室技术人员严重短缺,如当时 Sasaki 所在的公立医学院附属医院有 1000 张病床,但检验科仅有 19 名技术人员,而其他私立医学院附属医院若病床有 600 张,检验科却有 18~25 人。同时,当时日本的自动化技术取得了突破性进展。随后 1989 年第一套商业 TLA 系统由日立(Hitachi)公司在日本 Akita 大学医学院附属医院安装。而北美和欧洲 TLA 系统的安装至少晚于日本 5 年,并以纯血液学 TLA 检测系统开始,真正高度复杂的皮带传送系统(belt-line System)与自动离心机、标本揭盖机等一起组装是在 1995~1996 年出现于北美,1997 年出现于欧洲。

(2) TLA 发展情况

现就 Sasaki 教授及日本的 LAS 发展历程作一介绍。表列出了日本 TLA 的发展史。Sasaki 将 TLA 的发展史分为四个阶段;即起始阶段(1970~1979),运行阶段(1980~1989),繁荣阶段(1990~1999)和未来(2000 年后)。当时 Sasaki 将 TLS 称为自动系统自动化(Systematized automation),直至 90 年代后期才将其称为 TLA 系统。

在 20 世纪 60~70 年代,日本各医学院实验室技术人员严重短缺,同时,大量的实验项目需要开展,当时的临床实验领域达到了前所未有的兴旺时期。为解决这种实验项目多而实验技术人员缺乏的状况,日本的试剂制造商开始发展单一试剂,即所谓的“立即”反应试剂(instant reagent),这样不需实验室准备,从而节约劳动力。同时,医疗仪器制造商如日立、东芝(Toshiba)、欧林巴斯(Olympus)等公司开始大量研究自动分析仪,以满足临床实验室的需要。这一阶段,也是日本电子仪器大发展时期,电脑开始出现于市场,这为 ALS 的实现带来曙光。

20 世纪 70 年代除日本本国的自动分析仪制造商外,美国和欧洲公司的同类产品也开始进入日本市场。这样,日本的临床实验室就变成制造自动分析仪和即刻反应试剂厂商的市场。同时,国家公立医学院实验室的工作量开始缓解,并有能力提供临床所需要的实验服务。这一阶段,计算机开始安装并用于一些大医院的实验室。当时实验室内计算机仅用于统计计算和系统管理,而并未涉及大规模 LIS 的开发。1981 年公立 Kochi 医学院医院成立,当时实验室包括主任在内仅有 19 名技术人员;共设立了八个检查部门,它们分别是尿液分析、临床化学、血液学、血清学、细菌学、血库、生理学实验和外科病理

学实验室。其工作量之大,令人吃惊。而 Kochi 医学院又位于 Shikoku 岛上,离东京有 1000km,如要将检测标本送往东京,需 3 天才能得到实验结果。鉴于如此,Sasakt 与同事们一起决定建一个完全计算机化的自动实验室并保留其名为“全自动实验室系统”(fully automated laboratory system)。他们建成一个标本运载系统,即所谓“皮带传送系统”(belt-line system),利用这一系统,

盛有血标本的试管装入试管架(rack)上,将试管架放于传送带(conveyor belt),其可将试管架自行送至不同的自动分析仪。然后,自动分析仪按照所需要的测试项目开始自动分析,待分析完成后,计算机对分析结果进行自动分析、处理,并传送结果到开化验单医生的所在病房。这一完整系统共花 6 年时间,包括机器人自动分析系统应用于血清学凝集试验、输血、抗生素敏感试验、血清激素分析和血清电泳分析的自动检测系统。

当时并没有人相信和重视 Kochi 医学院医院实验室可自己建造自动化分析体系。1989 年日本 Akita 国立大学医学院 Shiro Uesugi 教授得到日本教育部的一笔经费用于在 Akita 大学医学院附属医院实验室安装一个有标本传送系统的自动化实验室,该系统由日立公司完成。待 Uesugi 教授成功后,大量的日本国立医学院通过同样的经费来源安装 ALS。90 年代初 ALS 便在日本成为时尚。到 1998 年 5 月,72% (31/43) 的国立医学院医院已成功引入了带标本传送系统的全自动 ALS。私立医学院和大医院实验室虽有足够技术人员完成各种实验,但也已认识到用 ALS 进行分析所得结果更准确、可靠。所以,一些私立医学院也在安装全自动 ALS。与此同时,日本的几家制造商如最有竞争力的日立、A&T、IDS 和东芝医疗器械公司都在制造和生产自动传送系统。

(3) 世界 TLA 发展现状

全世界范围内 TLA 发展情况如何呢?至 1998 年世界范围内安装 TLA 或标本传送系统共约 900 家。其中 60% 是自动血液学分析系统。同时,900 家中 60% 的 TLA 或标本自动传送系统存在于日本,约 30% 存在于北美和太平洋地区,世界其他地区的分布不足 10%。对于世界上现有最复杂的 TLA 系统,约 30% 存在于日本。日本约 50% 的医学院和 72% 国立医学院实验室都已实现 TLA。而在美国,1996 年位于 St. Louis, Missouri, Quest 实验室首先安装日本制造商的一套 TLA 系统,继这次成功之后,更多的实验室如纽约的 Beth Israel 医院和 Mount Sinai 医院分别进行 TLA 安装,随后荷兰的 Leiden 大学也安装了 TLA 系统。

从总的情况来看,世界上以发达国家尤其是日本在 TLA 系统实现方面走在前面。

(三) LAS 的特点

1. LAS 的特点

LAS,尤其是第三代实验室系统或 TLA,与前二代系统一样,都需要有技术的操作人员,只是大部分所谓“3D 工作”如揭盖、离心、加样等实现了自动化,这样使实验技术人员能集中精力从事更高层次的工作,如细胞和分子生物学诊断。所以,“全自动化”要 100% 取代人的价值和劳动,既不可能,也不可行。就什么才是真正的 TLA 或系统自动化,其内容和特点是什么,有不同的解释,至少尚无绝对化的定义。有人认为 TLA 一定要包括传送带,而不考虑分析仪是否与标本输送轨道(track)直接相连,另一些人认为 TLA 应包括某一实验诊断领域如血液学或几个领域的分析前、分析中、分析后所有过程的自动化,还有少数人将 TLA 定义为只从某生产厂商(vendor)购置的系统。Hoffmann 建议 TLA 应有以下 3 个特点(3)一个临床常规实验室原有大部分人的工作实现了自动化;(2)需要的传递工作仅仅是标本的装卸(loading and unloading);(3)使实验技术人员从事更高价值的劳动如结果审核(valiation)、解释、显微镜检查、实验开发等。同时,一个自动常规实验室也应包括纯临床血液学或化学实验室,只要其能以高效率对大量标本完成分析或对常规工作有高处理分析的能力(throughput analyse)。同时,TLA 实验室的仪器或各组成部分可来自于不同厂家的组装系统(assembled system),即 TLA 系统或实验室的仪器与其来自一个厂家称纯全套系统(turnkey system)或是分开模块式(separated module)或一体化无关,也与 TLA 是一次性或分阶段的安装完成无关。西方国家 TLA 主要是分阶段(in stages)组装完成的模块系统(modular system),因其具有重要的实际意义。

2. LAS 的优点

除上述 TLA 定义应具备的特点外,TLA 或 LAS 的优点可分为以下 10 个方面:(1)提高工作效率,即在单位时间内,一个实验室技术人员可在保证质量的前提下完成更多的工作。通过 LAS 可大大降低单个劳动力所消耗的费用,从而为实验室和医院节约经费,减少开支。(2)缩短 TAT,即使用 LAS 可以更快的速度,在更短的时间内为临床病人的诊断、治疗提供数据和信息。(3)增加仪器的使用效率,由于合并、整合,将原有各自分散的仪器集中使用,充分发挥其效率,使未被开发的功能或检测项目进一步发掘和利用。(4)试验方法标准化,LAS 可以减少室内与室间的变异系数,提高实验结果的精密性与准确度,增加结果的可比性与可信性。(5)减少实验误差,例如手工操作时样品编号、离心发生的错误,加样品与试剂量不准确,计算结果以及填写报告单的错误等。总之,LAS 不再受操作人员技术高低、特殊时间内技能状态(如疲劳)等各种因素的影响。(6)改进分析方法,许多先进的、精密的分析方法极难由手工操作完成,例如连续监测法。(7)LAS 有监测、统计、储存、数据传送等多种功能,可以及时报警纠正错误,如标准、质控检测不合格、试剂量不足、仪器发生故障等均可报警。(8)减少标本与试剂用量,LAS 测定一个项目所需标本约数微升,试剂量仅数十或数百微升,这对需要某些价格昂贵试剂的试验就大大节约了费用;同时减少了废液量及对环境可能造成的影响。(9)改善实验室技术人员与医生的沟通,由于 LAS 提高劳动生产效率,减少了人力,使技术人员有更多精力投入结果审核、与临床医生的沟通增加,提供实验室咨询服务。(10)提高实验室科研水平和人员素质,由于 LAS 取代大量人工劳动,使实验室人员可集中精力学习新技术,搞科研,投入新产品、新技术的开发、利用。总之,LAS 已成为临床实验室面对非常激烈的市场竞争不可缺少的生存工具,必将越来越显示其强大的生命力。

3. LAS 的不足

首先,现实全自动 LAS 或 TLA 的最大障碍,也是其最大的不足,即 TLA 系统价格的昂贵。已安装 TLA 的实验室初步统计,平均每套 TLA 系统(不包括分析仪器)要花近 100 万美元。相比之下,3000 家实验室却受益于模块自动化系统,其所用费用包括分析仪器在内大约为几十万美元,仅为 TLA 的 1/3。因此,最大限度的减少生产自动化各部分的成本是生产厂家的当务之急。其次,是 LAS 或 TLA 各组成部分的标准化问题,这也是各制造商面临的挑战和必须解决的问题。例如,现有制造传送系统的各厂家生产的试管架、试管、传送带其形态与大小各异,只为方便与适合自己的传送系统而生产。因此,在组装 LAS 时,还不得不用另外的特殊装置以整合连接各生产厂家所提供的各种仪器设备或机器人。这意味将涉及不必要的经费开支。所以,各种提供 LAS 的制造商在生产整个自动化系统的传送带、装标本的容器、试管盖、条形码及涉及所有分析过程中的设施或设备时必须标准化,这样为用户提供可选择的空间和机会,并且组装 LAS 时不会因哪一个厂家生产的设备或自动化系统而受到任何影响。只有到那时,真正的 LAS 市场才能得到扩大,用户才会更多。

第二节 实验室自动化系统的基本概念和特点

一、与 LAS 有关的基本概念

为了避免学术术语的混淆,现将部分与 LAS 或 TLA 相关的基本概念做一描述。

(一)合并与整合

1. 合并

首先要提到在 TLA 系统中的两个关键概念,即合并与整合。合并(consolidation)是指将不同的分析技术或方法结合于一体并让一台仪器或一组相关的仪器完成其功能。例如,Abbott Axsym 全自动免疫分析仪将微粒子捕捉酶免疫分析(MEIA)、偏振荧光免疫分析(FPTA)、荧光免疫测定(fluorescent immunoassay,FTA)等几种技术结合并利用其在同一台分析仪上进行分析。检测的项目与种类很多,如各种肿瘤标志物、各种激素、药物、毒物、肝炎标志物等。又如 Sysmex 公司的血液运送分析系统(hematology system transportation,HST)将三种相关血液分析仪—SE—9000(CBC 和 DC 分析仪)、R—3000 网织红细

胞分析仪和选择性血片制作仪(selective blood film preparation, SP-1)联结在一起共同完成对全血细胞的分析,包括全血细胞计数、白细胞分类及异常血标本血膜制作。

2. 整合(integration)

整合是指将分析前、分析后的设备与不同种/组的分析仪联结在一起。例如,Hitachi 临床化学整合系统将全自动生化分析仪(Hitachi)与标本进样装置(sample feeder)、离心机、揭盖机(uncapper)、标本分装器(aliquot station)、条形码标记装置(bar-code labeling station)、标本贮存器(sample stocker)和标本传送装置有机的联合在一起而实现对临床常规化学检查的全自动化。

3. 合并与整合的关系

合并与整合的关系如何呢?具体地说,整合是建立在合并的基础上,前者是后者的延伸和扩展,二者既有联系,又有区别。如 OlympusAU5200 是将一个内传送道(internal track)与模块式化学分析仪合并的一个例子。在此基础上,与分析前、分析后的自动化系统连接并成为自动化的整合。

4. 其他与整合和合并有关的概念

实验室自动化包含了一系列设备与仪器,从单一的机械设备到整套全自动 TLA 系统。因而有必要澄清以利于理解。

(1) 分析合并(analytical consolidation)

指几种分析技术合并于一台分析仪器的过程。如前述的 Abbot Axsym 自动免疫分析仪的设计制造过程。

(2) 合并仪器(Consolidated instrument)

指一台分析仪含有几种不同的分析技术。例如,前述的 Abbot Axsym)自动免疫分析仪含有三种分析技术,可作大量不同的检测项目。

(3) 工作整合(task integration)

指将各种自动化工作整合成一个连续的工作过程。如前述的 Hitachi 的临床化学整合系统的整合过程。

(4) 系统整合(system integration)

系统整合是实现 LAS 的关键。所谓系统整合是指实验室的计算机硬件、软件、分析仪器、机器人或标本传送系统、仪器可视系统等结合形成一个能正常运转、分析的整体。系统整合依赖于上述各系统彼此协调、完善及实验室技术人员的密切配合。

系统整合的首要成分是自动化分析软件和 LIS 之间的整合。因为在自动化实验室,分析大多数标本所得到的结果与报告都依赖于 LIS 和自动化系统的整合。例如,LIS 的运作依赖于标本登记号(specimen accession number),该登记号用于驱动自动化系统。现在的标本登记号均以电子连接式形式出现。该登记号含丰富信息,包括病人姓名、病人住院号或其他特有的身份证号,病人家庭住址和其他信息。此外,该登记号还含有实验项目码及完成该实验项目的分析仪及其位置。同时,标本的分布、分装、传送路线也依赖于 LIS 的信息转换。另一方面,自动化系统与各个分析仪或工作站的整合也需要自动化分析软件与 LIS 之间的整合。

5. 标本管理器(specimen manager)

是指用一个机械装置在分析前和分析后用于标本的贮存和缓冲(buffering)。试管架上只要有 1~10 个标本,就可被置于标本管理器,其可将标本依次送入分析仪,在完成检测后,试管架又被自动移到分析后的缓冲器贮存。

至于标本传送的整合可通过传送带内(on-line)或非传送带或带外(off-line)二种方式,通过传送带传送的标本可通过标本管理器的传送带,而通过带外传送标本方式可由机器人臂进样工作站进行。最简单的整合方式是将标本置于标本运载器(specimen carrier)内,其将标本送至离心机、标本分装机和自动分析仪。更高层传送带外的标本传送整合是用一个基于传送器的标本准备台,其可将各种不同的分析前标本送至不同传送道,这些传送道便将标本送至分析仪。最复杂的标本处理系统是全整合系统,

即无需任何人参与便可完成标本的准备、分析、贮存及数据处理。

(二)与 LAS 有关的工作站

1. 工作站 (workcell)

即是标本管理器、一台或几台分析仪合并的结合物。一个工作站包括分析前的标本缓冲/管理器,由连接机器人臂运输标本至分析仪,最后自动将分析后的标本置于分析后的缓冲器。工作站能用硬件例如笛卡儿机器人 (Cartesian robot) 或连接机器人臂 (articulating robotic arm) 进行自动化连接。

2. 模块工作站 (modular workcell)

一个模块工作站是由一组仪器与标本管理器连接形成的一个整体。现在组成模块工作站的相关仪器通常由一家制造商提供,如 Sysmex 公司生产的 HST-330 系统。但是在今后这种模块工作站可由不同的厂家提供不同仪器组合而成。

3. 分析前工作站 (preanalytical workcell)

分析前工作站包括标本登记 (sample accessioning) 和标本处理工作。例如,分析前工作站包括对标本是否有错和标本条形码进行检查,标本离心,标本分装,对分装样本重新贴标签及对标本进行暂时缓冲贮存。

4. 整合工作站 (integrated workcell)

指一系列仪器、设备合并组合的分析工作站与分析前工作站联结形成一整体。

(三) 自动化实验室结构

1. 全自动实验室自动化系统 (TLA system)

TLA 系统是由几种分析仪、组合设备、工作站、整合工作站或整合模块工作站与标本管理系统和标本传送系统以及分析控制软件共同组成一个自动分析系统,其可对实验室的大部分工作实现自动化。

2. 自动化实验室结构

自动化实验室的特征之一是由经过正规训练的专业人员向临床医生所提供的实验室数据能直接复现 (retrieval),即临床医生可在病房通过计算机直接从实验室获取检验信息和数据。一个完善的自动化实验室的基础结构包括有信息收集与分析计划。实验室信息系统应是双向的,即临床实验室的数据可直接向各病房,同时,实验室也可以从上述场所获取信息与数据。临床实验室为及时而满意地向临床和病人服务应拥有的基本信息处理系统。今后的核心/中心实验室为适应实验室各种实验将分布于医院、诊所和社区并将更加注重和加强 LIS。

二、LAS 的结构特点

第三代实验室自动化系统除自动化分析仪外,有三个重要的结构组成部分,即标本自动转送系统 (sample transportation system)、标本处理系统 (sample handling robot system) 和信息处理系统 (information handling system)。下面就这三个结构特征予以简述。

(一) 标本自动传送系统

第三代 LAS 最明显的结构特征就是标本可在整个分析过程 (前、中、后) 中进行自动化转运和传送。表 (7-2) 中列出了目前世界上可供选择使用的标本自动传送系统;其主要分为二类,即传送带 (conveyor belt) 和机器人 (robot),前者对标本的传送是连续的,后者则可将标本选择性地送至规定位置。目前,主要以传送带系统为主,可能在今后会有更多的选择性机器人传送系统出现。

(二) 标本自动处理系统

标本处理包括分析前与分析后的标本处理过程。值得一提的是,大多数标本处理的理想方案都需计算机系统予以模拟证实和预测。下面介绍一些标本自动处理系统中特征性术语。

1. 分选 (sorting)

将不同标本按不同分析项目进行分选是实验室工作的第一步,也是相当关键的一步。标本分选的自动化可由取放 (pick and place) 机器人或电脑控制的传送带来完成。一个很好的分选自动化系统的判断标准是其简单、价廉、有效,并且能对复杂标本进行鉴定如溶血、脂血、黄疸等。分选自动化系统除

有传统的条形码技术外,还应包括二维条形码(2-D barcodes)、芯片(chip)和图像技术(imaging technique)。分选标本目前至少有以下三种方法:机器人、传送带及分析仪传送器组成的连环结构。

表 7-2 自动化实验室系统的部分标本传送系统

传送带或机器人及特点	提 供 厂 商
模块分析仪内传送带	Olympus AU5000 系列
模块分析仪前传送带	Sysmex HST
连接分开不同设备的外部传送带	Beckman - Coulter CLA, Hitachi CLAS
用于载卸及标本分装的笛卡儿机器人	Roche PSD, Tecan Genesis
在传送道固定或移动式多功能机器人	CRS 机器人系统
传送标本至分析仪上的移动机器人	CCRI Robocart, Abbott Axsym

2. 自动离心装载(automatic centrifuge loading)

为了克服批间离心过程的不连续性,便出现了自动离心系统。然而,自动离心系统需复杂的时控装置和自动平衡系统;使机器人装载系统十分昂贵。很多实验室包括中心实验室(core laboratory)都采用传送带外离心,还有一些实验室从开始就接收已离心的标本。这样,实验室就不再需要标本离心这一过程。当然,如何使用自动平衡的离心机,其既适用于手工,又可用于机器人装载系统将会更好。

3. 揭盖(decapping)

通常对同一类型的试管揭盖较容易,但当试管或盖的类型不同时,便需要更复杂的机器人装置。因此,在选择揭盖机前,需对试管的类型予以标准化。自动血液学分析时不需揭盖,因通常采用盖刺穿(cap piercing)技术,该技术的使用较其他专业需揭盖显得更简单和方便。

4. 分装(aliquotting)

样品分装自动系统,因其(1)可增加用几台分析仪同时对同一标本的分析速度;(2)以一次性吸头可避免标本的携带污染率(carry-over),并不污染原始标本管。而在其他国家包括西方国家在内的实验室主要使用的原始标本试管吸样而不是分装样品,因这在过去已大大减少了吸样操作时间。可以肯定今后会大大加速和促进使用分装后的样品而不是原始标本管内的样品。

5. 分析样品的装卸(analyzer loading and unloading)

这一过程可靠手工、机器人或传送器进行。其各有特点,手工具有高度的灵活性,机器人对分析样品的装卸可与任何一种分析仪整合,而直接传送器是最快和可靠的方法。

6. 重复测定(rerun)

这一过程需要样本回到标本处理的起始点。最简单的方法是以手工法将标本从分析系统的输出缓冲器移至分析系统的起始点。较复杂的自动化分析系统有一双标本传送道或有一附加(by-pass)机制允许标本在传送道上双向移动。

7. 标本的贮存和复现(storage and retrieval)

这一过程的自动化与应用于药房、仓库的药品或物资的贮存与复现原理相同。由于使用机器人对样本的复现成本较贵,当实验室每天贮存的标本是少于1000时,有人建议使用计算机化的样本轨道双向传送;同时,结合手工对标本进行复现。

(三)信息处理系统

LAS的实现在很大程度上依赖于LIS的存在。在临床实验室,自动信息处理较自动化标本处理发展快得多,也先进很多。在大量的自动化分析仪中,实验室信息系统(LIS)结合复杂的软件能分析和处理大量数据和实验结果。这里要述及的是有关全实验室自动化(TLA)系统中的LIS进展。

一般所指的信息处理包括:(1)由所谓数据管理器(data manager)对众多分析仪所得数据进行合并,这样勿需每台自动分析仪再配置一台计算机屏幕或界面(interface);(2)将远处实验室收集的数据和结果进行集中审校(centralized validation);(3)收集从各种渠道包括实验室内的自动分析仪和实验室

外来源的病人检查结果如家庭病房进行的床旁分析结果。而近来在 TLA 系统中新出现和发展起来的信息处理系统包括:

1. 自动化分析过程控制系统 (process control system, PCS)

包括对标本传送、机器人控制、分析前、分析中和分析后过程的控制。而在过去 TLA 实现前,包括现在尚未实现自动化实验系统的实验室内,其 LIS 最缺乏的就是分析过程控制软件。今后的发展方向应较现阶段 LIS 包含更多的决策能力 (decision-making capabilities)。利用厂商所提供的高质量 LIS 和 PCS 软件,实验室技术人员有更强的决策能力,如可直接将标本送至工作区,任意减少组合试验中某一项或几项,任意进行重复试验,对需重复试验的标本自动送回分析仪,对标本如何进行贮存及贮存后标本的处理等。

2. 自动结果审核和自动重新分析系统

在现有 TLA 和 LIS 系统中,计算机系统在自动对分析结果进行审校基础上,对可疑或不符合的结果自动进行重复试验 (automatic reflex testing),以保证结果的准确性、可靠性和重复性。

3. 计算机对结果的解释系统

对实验结果进行计算机化解释,不仅需要复杂的专家系统 (expert system) 和语言处理技术 (language processing technology),而且计算机还能对医学专家包括实验室高级技术人员和有经验的临床医生对结果提出的疑问进行重新检查 (double-check)。在对结果解释过程中,计算机还能协助实验室技术人员作以下工作:(1)分选出那些不需做特殊解释的报告;(2)节约实验室报告的书写时间;(3)集中精力对那些可疑分析结果进行仔细分析和检查。有一点必须明确,无论计算机程序多么复杂,结果多么可靠,在报告发出前必须由实验室专家予以签名和确认。

第三节 实验室自动化系统的基本组成

实验室自动化是在工业自动化如汽车、电子、军工制造业的基础上发展起来的,其大量技术均源于工业自动化并加以改进和完善。表(7-3)列出了实验室自动化的基本组成。当然,实验室自动化系统还应包括主要的分析测试系统即自动分析仪,只是这里不予以重点介绍而已。现就 LAS 的重要组成成分介绍如下。

表 7-3 LAS 的基本组成

1. 系统工程	2. 标本处理系统	3. 床旁分析自动化
0 模拟造型	0 标本的标记和阅读标记	4. 标本的贮存与复现
0 人工智能	—条形码	5. 废品处理
—专家系统	—机读	6. 实验室—医院的信息整合
—中枢网络	0 分选	
—模糊逻辑专家系统	0 离心	
0 分析过程控制	0 界面	
0 分析过程优化	—机械串口	
	—计算机界面	
	0 传送	
	—传送带	
	—移动式机器人	

一、实验室机器人

机器人是指一种能自动控制,能重新程序化,有多种用途,能在不同程度上自由操作的机器。其可根据自动化需要成为固定或移动式机器人。由于机器人价廉,具有多功能,其在临床实验室中的应用越来越广泛。这是介绍已商业化的几种主要用于临床 LAS 的机器人,即笛卡儿机器人、圆柱形机器人、连接机器人及自动操纵机系统。