

YIXUE

# 医学检验技术



YIXUEJIANYANJISHU  
YULINCHUANG

# 与临床

贺 仆 / 等 主编



 济南出版社

中国标准书号(CIP)数据


# 医学检验技术与临床

YI XUE JIAN YAN JI SHU YU LIN CHUANG

贺仆等 主编

责任编辑：张明敏  
封面设计：李新梅

出版发行：济南出版社  
地址：山东省济南市经二路291号  
邮编：250001  
网址：www.jnpp.com  
印刷：山东恒兴实业集团有限公司  
版次：2009年9月第1版  
印次：2009年9月第1次印刷  
开本：210×290 1/16  
印张：24  
字数：500千字  
定价：48.00元

 济南出版社

版权所有 侵权必究

图书在版编目(CIP)数据

医学检验技术与临床 / 贺仆等主编. — 济南: 济南出版社, 2009. 8

ISBN 978 - 7 - 80710 - 867 - 2

I. 医… II. 贺… III. 临床医学—医学检验 IV. R446.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 154728 号

责任编辑 张所健

封面设计 侯文英

出版发行 济南出版社

地 址 山东省济南市经七路 251 号

邮 编 250001

网 址 [www.jnpub.com](http://www.jnpub.com)

印 刷 山东恒兴实业总公司印刷厂

版 次 2009 年 9 月第 1 版

印 次 2009 年 9 月第 1 次印刷

开 本 210 × 290 1/16

印 张 24

字 数 700 千

定 价 48.00 元

(济南版图书, 如有印装错误, 请与印刷厂联系调换)

主 编:贺 仆 宫奇林 田明丽 席作明  
迟小伟 马万山  
副主编:沈 明 孙 涛 马庆海 张忠房  
林浩杰 王小青 王 岚 庄 静  
胡 影 司 磊 杜银菊 潘保云  
贾克鹏 李爱芹 刘 杰

编 者:(按姓氏笔画排序)

马万山 马庆海 王小青 王 岚  
田明丽 司 磊 庄 静 刘 杰  
孙 涛 杜银菊 李爱芹 张忠房  
沈 明 迟小伟 林浩杰 胡 影  
宫奇林 贾克鹏 席作明 贺 仆  
潘保云

## 前 言

近年来,随着基础医学和临床医学的迅速发展,医学检验事业也得到了快速的发展,其知识更替日新月异,新仪器、新方法、新项目不断涌现。

为了使临床工作者能充分有效地利用检验项目进行疾病的诊断、疗效观察和预后判断,我们从检验工作的实际出发,组织在临床检验学方面造诣较深的专家共同完成了本书的编写工作。本书在借鉴国内外本学科最新进展和动态的同时,总结了国内教学和临床实践的经验,吸取了理论和实践两方面的精华。书中介绍的操作方法均为国内外公认的并在国际上广泛应用的优秀方法,内容力求符合我国国情并能反映当代的先进水平。为了使本书的内容更全面,也简单介绍了一些并非反映新科学发展水平的操作方法。考虑到我国临床检验队伍理论水平的实际状况和临床医生的实际需要,本书对各种实验的基础理论部分和临床意义方面介绍得较为详细,以满足提高检验人员基础素质和培养临床通才医师的要求。

本书共有 26 章,基本囊括了医学检验的全部内容,反映了当前医学检验的基本水平和现状。本书可供综合性医院、专科医院、疾病控制中心、职业病医院的广大临床医师、检验师和护士使用,同时也可供医学院校医学系、检验系的师生实习时使用。

本书在编写的过程中,得到了许多方面的热情关心和支持,同时也受益于各方面提出的很多中肯的宝贵意见,我们在此谨表示诚挚的谢意。需要指明的一点是,本书虽经多方面努力,但由于编者水平有限,缺点和错误在所难免,敬请本领域内的专家和广大读者批评指正,以便再版时修订完善。

编 者

2009.8

# 目 录

(48)	自动生化分析仪技术	第三章
(82)	自动生化分析仪技术	第四章
(87)	自动生化分析仪技术	第五章
(88)	自动生化分析仪技术	第六章
(88)	自动生化分析仪技术	第七章
第一章	自动生化分析仪技术	(1)
(1)	第一节 自动生化分析仪发展概况	(1)
(6)	第二节 自动生化分析仪工作原理	(2)
(9)	第三节 主要全自动生化分析仪简介	(6)
(10)	第四节 生化分析的全程质量控制	(14)
(10)	第五节 生化检测项目在疾病临床诊治中的应用	(16)
(18)	第六节 自动生化分析仪展望	(19)
第二章	干化学生化分析技术与临床应用	(20)
(20)	第一节 干化学生化分析仪概况	(20)
(22)	第二节 干化学生化分析常用测试项目	(24)
(29)	第三节 干化学法的质量控制	(42)
第三章	血气酸碱分析与电解质检测技术及临床应用	(43)
(43)	第一节 血气酸碱分析技术发展概况	(43)
(43)	第二节 血气酸碱分析仪的工作原理、基本结构与主要机型	(43)
(47)	第三节 血气酸碱分析技术的临床应用	(47)
(48)	第四节 血气酸碱分析技术的质量控制	(48)
(51)	第五节 血气酸碱分析技术应用展望	(51)
(52)	第六节 电解质检测技术的发展概况	(52)
(54)	第七节 电解质分析仪的主要型号	(54)
(55)	第八节 电解质分析技术的临床应用	(55)
(56)	第九节 电解质分析技术的质量控制	(56)
(57)	第十节 电解质分析技术的应用展望	(57)
第四章	特种蛋白免疫分析仪与临床应用	(59)
(59)	第一节 概 述	(59)
(60)	第二节 特种蛋白免疫浊度分析测定法	(60)
(61)	第三节 免疫浊度测定法	(61)
(66)	第四节 特种蛋白分析系统	(66)
(70)	第五节 特种蛋白仪器检测参数的临床意义	(70)
第五章	自动化酶免疫分析技术与临床应用	(80)
(80)	第一节 免疫分析技术的发展	(80)
(82)	第二节 ELISA 技术与自动化	(82)

# 目 录

第三节	自动化 ELISA 技术的临床应用	(84)
第四节	自动化 ELISA 技术的质量控制	(85)
第五节	自动化 ELISA 技术应用展望	(87)
第六章	发光免疫分析技术与临床应用	(88)
第一节	发光免疫分析技术发展概况	(88)
(1) 第二节	发光免疫分析技术	(89)
(1) 第三节	发光免疫分析技术的临床应用	(94)
(1) 第四节	发光免疫分析的质量控制	(106)
(1) 第五节	发光免疫分析技术的前景展望	(109)
第七章	临床分子生物学技术与应用	(110)
(1) 第一节	临床分子生物学技术的发展背景	(110)
(1) 第二节	临床分子生物学技术的基本原理与相关设备	(113)
(1) 第三节	分子生物学技术的临床中应用	(138)
第八章	微生物生长检测仪器与临床应用	(149)
(1) 第一节	血培养仪器	(149)
(1) 第二节	分枝杆菌生长检测仪器	(159)
第九章	细菌检验中的仪器分析与临床应用	(163)
(1) 第一节	细菌鉴定及药物敏感试验仪器分析	(163)
(1) 第二节	全自动细菌鉴定系统	(163)
(1) 第三节	自动化先进鉴定仪的发展方向	(180)
第十章	血细胞分析仪与临床应用	(182)
(1) 第一节	血细胞分析仪检测原理	(182)
(1) 第二节	血细胞分析仪检测参数的临床意义	(185)
(1) 第三节	血细胞分析仪应用进展	(189)
(1) 第四节	网织红细胞自动化分析与临床应用	(193)
第十一章	血细胞分析仪使用的全面质量控制	(201)
(1) 第一节	分析前质量控制	(201)
(1) 第二节	分析中质量控制	(211)
(1) 第三节	分析后质量控制	(214)
第十二章	血细胞分析仪的细胞直方图分析	(216)
(1) 第一节	正常直方图	(216)
(1) 第二节	白细胞异常直方图	(220)
(1) 第三节	红细胞异常直方图(以 Coulter JT-IR 型仪器为例)	(226)
(1) 第四节	血小板异常直方图(以 Coulter JT-IR 型仪器为例)	(227)
(1) 第五节	分析细胞直方图时应注意的问题	(228)
第十三章	血细胞形态学检查	(230)

(105) 第一节	外周血白细胞	第三章	(230)
(106) 第二节	白血病细胞形态学	第三章	(239)
第十四章	白血病的 MIC 分型及临床应用	第三章	(244)
(175) 第一节	急性白血病的 MIC 分型	第三章	(244)
(185) 第二节	慢性白血病的 MIC 分型	第四章	(251)
第十五章	骨髓增生异常综合征的诊断	第五章	(261)
第十六章	凝血机制研究进展	第六章	(265)
第十七章	血小板的止血、凝血机理及其检测	第四章	(271)
(198) 第一节	血小板的主要生化组成及其代谢物的检测		(271)
(111) 第二节	血小板活化反应及其调节		(274)
第十八章	凝血酶原时间及其 INR 系统	第三章	(279)
(114) 第一节	INR 系统的概念	第四章	(279)
(104) 第二节	凝血质 ISI 值的标定	第五章	(279)
(174) 第三节	试剂的选择及其对 INR 的影响	第六章	(281)
(194) 第四节	正常参比血浆值(MNPT)	第六章	(283)
(102) 第五节	不同 PT 检测方法对结果的影响	第六章	(284)
(102) 第六节	INR 的局限性	第七章	(285)
(102) 第七节	凝血酶原时间的应用	第五章	(286)
第十九章	纤维蛋白溶解系统检验进展与临床应用	第三章	(288)
(102) 第一节	纤溶系统的组成及特点	第三章	(288)
(102) 第二节	纤溶系统的功能和调节	第三章	(290)
(103) 第三节	纤溶系统的实验室检查及其进展	第六章	(292)
(103) 第四节	纤溶系统检查的临床应用	第三章	(296)
第二十章	凝血仪及其临床应用	第三章	(298)
(100) 第一节	凝血仪的检测方法与原理	第三章	(298)
(117) 第二节	凝血仪简介与评价	第三章	(301)
第二十一章	止血与血栓实验的质量控制		(303)
第一节	标本的采集		(303)
第二节	试剂的应用		(307)
第三节	设备和仪器		(308)
第四节	实验技术		(309)
第二十二章	临床血液流变学及其研究进展		(312)
第一节	基础知识		(312)
第二节	血液流变学的临床应用		(315)
第三节	血液流变学的基础研究		(318)
第四节	血液黏度的测量方法与质量控制		(323)



第二十三章 干化学尿液分析的自动化	(326)
(98) 第一节 尿液分析仪的分类	(326)
(14) 第二节 尿液分析仪的原理	(326)
(14) 第三节 尿液分析仪的安装、鉴定及保养	(327)
(12) 第四节 尿液各项常规检查原理及工作中应注意的问题	(328)
(16) 第五节 尿液自动化检查的质量控制	(333)
(20) 第六节 浓缩型病理成分尿分析质控液的制备	(335)
第二十四章 尿沉渣检验与质量控制	(339)
(17) 第一节 尿沉渣检验方法学进展	(339)
(14) 第二节 尿沉渣检验的质量控制	(341)
(97) 第三节 尿沉渣管型检验	(342)
(97) 第四节 尿沉渣白细胞检验	(344)
(97) 第五节 尿沉渣红细胞检验	(346)
(18) 第六节 尿沉渣上皮细胞及异形细胞检验	(347)
(48) 第七节 尿沉渣中异常结晶的分类检验	(349)
(84) 第八节 尿中病毒感染细胞包涵体	(350)
(82) 第九节 尿沉渣的保存法	(352)
第二十五章 尿沉渣细胞检查的自动化	(355)
(88) 第一节 尿沉渣自动化分析发展史	(355)
(88) 第二节 全自动尿沉渣分析仪的原理	(355)
(90) 第三节 全自动尿沉渣分析仪检测项目及其临床意义	(358)
第二十六章 浆膜腔积液与临床	(363)
(89) 第一节 渗出液和漏出液的鉴别	(363)
(89) 第二节 浆膜腔积液一般检查及其临床意义	(364)
(89) 第三节 浆膜腔积液特殊检查及其临床应用	(366)
参考文献	(371)
(303)	章一十二第
(303)	章一第
(303)	章二第
(303)	章三第
(303)	章四第
(313)	章二十二第
(313)	章一第
(313)	章二第
(313)	章三第
(323)	章四第

# 自动生化分析仪技术

现代临床实验室所面临的挑战是及时而又经济地提供准确、可靠的结果,从而达到在降低费用的同时提高卫生工作的质量。在这样的挑战面前,临床实验室的中心化和自动化就成为检验医学发展的必然趋势。自从1957年第一台生化自动分析仪问世和使用后,生化分析仪自动化的发展进程就一直走在临床实验室自动化的最前列。同时,临床化学近年来的飞速发展在很大程度上是得益于全自动生化分析仪的不断改进和方法学的不断完善。可以说,自动生化分析仪无论从硬件、分析方法、试剂应用以及临床应用等方面的发展,还是分析全过程的发展趋势,都代表了临床实验室自动化的发展进程。

## 第一节 自动生化分析仪发展概况

自动生化分析仪以其高技术含量、高准确性、高精密度、高灵活性和高工作效率为特点,已成为现代临床检验科室中必不可少的设备之一,担负着越来越繁重的常规检验工作。临床实验室检验手段经历了手工操作、半自动分析和全自动分析过程,科学技术的飞速发展,使得自动生化分析仪类型不断更新,功能不断完善,检测速度不断提高。

长期以来,临床生化的检测多是靠手工方法完成操作。这些操作受技术的熟练程度和工作责任心等因素的影响,常使结果出现一定误差。随着临床生化项目的增多及检验数量增加,单靠手工操作往往难以满足临床需要。如果仔细分析一下生化检验的操作要点,就可以注意到这些检验大部分都离不开样品处理(包括稀释、去蛋白等)、加试剂进行反应(如显色、加热等)、检测反应产物(如比色、比浊法等)、数据处理(包括发报告)等具体操作。这些操作都可适当组合起来,同时再配以计算机硬件及软件等先进的显示手段,就可制造出很多自动分析仪器。

世界上第一台用于临床生化检验的自动分析仪是美国泰克尼康(Technicon)公司于1957年设计生产的,仪器名为Auto Analyzer,是一台单通道、连续流动式自动分析仪。最初只用于血葡萄糖、尿素氮测定,报告的结果是光密度(O.D.)值。1964年,又报道了一个供多项目同时测定用的分析仪。随后,泰克尼康公司生产出连续多通道自动分析仪SMA(sequential multiple analyzer)系列。到20世纪70年代中期又研制出SMAC,该仪器由电子计算机控制,每小时可测150份标本,每个标本可同时测定20个项目,使连续流动分析达到一个新水平。

国外如日本、美国等国各大医疗仪器公司生产的自动生化分析仪在20世纪70年代后期竞相发展,到如今已相当完善。日本OLYMPUS公司自1968年第一台大型全自动生化分析仪问世至今,已先后生产出满足不同标本处理量的分析仪。日本HITACHI公司也陆续生产了各种不同型号的分析仪。美国BECKMAN公司相继生产了CX系列型号和DELTA系列的分析仪。这些大公司生产的自动生化分析仪各有特色和优势,但它们都具有一些共同特点:使临床生化检验中主要操作实现了机械化、自动化。其中包括:定量吸取标本并转移到反应杯或反应管道系统;通过沉淀或过滤、离心、层析、透析等分离去掉反应中的干扰物;定量吸取试剂,同标本混合,自动控制在一定温度下反应一定时间;通过可见光、紫外光、火焰光度计、荧光、散射光或氧电极、离子选择电极、酶电极、同位素计数等检测技术,对反应终点、初速度或反应过程进行监测;借助电子计算机将仪器的各项功能程序化,控制仪器的运转和反应过程,处理或判断实验数据,并将结果以数字、描记曲线显示或打印报告;测定标本后,清洗反应容器、管道系统和准备下一次使用等。自动分析仪的应用使临床生化检验大大提高了准确性、精密度和工作效率,适应

## 第二节 自动生化分析仪工作原理

### 一、生化自动分析仪的分类

对不同功能的自动生化分析仪,一般可按以下分类。

1. 按自动化程度分为全自动及半自动生化分析仪。半自动生化分析仪多半还要靠手工完成样品及反应混合体递送,或是手工观测及计算结果。

2. 按反应装置结构分为连续流动式、分立式、离心式和“袋式”生化自动分析仪。

3. 按反应方式分为普通(液体)和干式生化自动分析仪。所谓干式是把样品直接加到滤纸片上,以样品做溶剂,使反应片上的试剂溶解,进一步完成反应。由于反应片结构方面不断改进,观测能力增强,使干化学技术有很大发展,干化学分析仪目前多用于急诊和现场化验。

4. 按仪器复杂的程度及功能分为小型、中型和大型自动生化分析仪。小型一般为单通道;中型为多通道,常可同时测2~10个项目,有些仪器测定项目不能任意选择,有些可任意选择;大型多通道仪器可同时测10个以上项目,分析项目可自由选择。

### 二、任选式自动生化分析仪的主要部件

鉴于各种自动生化分析仪分类的复杂性,我们只对常用任选式自动生化分析仪的一般特点作一概括介绍。

任选式自动生化分析仪虽然类型很多,但工作原理均为比色分析法,由微处理器及储存软件控制各个部件的运作,做自动加样、比色、计算结果、打印报告单。

#### (一) 加样系统

1. 样品转盘或传送轨道 可放置小型塑料样品杯数十只。中型以上分析仪除了用小型样品杯外,有的可直接将放有原始试管的试管架置于传送轨道。有条形码阅读装置的仪器,样品盘或试管架上可加有编号与检测项目信息的条形码。

2. 试剂室 不同型号的分析仪,试剂室能同时放置的不同试剂有20~40余种不等。工作速度极快的组合式分析仪有大容量试剂盒,两台以上主机组合可以分析更多检测项目。试剂室的冷藏装置使试剂保存在5~12℃,有条形码装置者可任意放置试剂盒的位置。

3. 样品取样单元 由样品取样臂、采样针、采样注射器、步进马达(或油压泵、机械螺旋传动泵)组成,采样针前端有液面传感器,可防止空吸或深入抽血试管下层的凝血块。

4. 试剂取样单元 组成部件同上。试剂取样针前端也有液面传感器,可防止空吸或针尖深入试剂盒底层而引起试剂针外壁液体挂淋。试剂冷藏室试剂臂中有加温装置。

双试剂式分析仪有第二试剂室和第二试剂取样单元。

#### (二) 比色系统

1. 光源 多数用卤素钨丝灯,工作波长325~800nm;少数分析仪用氙灯,工作波长285~750nm。

2. 比色杯 有三种形式。

(1) 分立式比色杯转盘 可放100只左右的比色杯做圆周运动,静止期比色杯中分别加样品、试剂及搅拌,加样后在慢速旋转中测吸光度。有的使用条形多联比色杯,在传送轨道上线性运动来回做吸光度测量。比色杯光径通常为0.6~0.7cm,少数为1.0cm,通常为石英或优质塑料。大多数分析仪都有比色杯自动冲洗装置,比色结束后比色杯做自动反复冲洗、吸干,自动检查合格者继续循环使用。

(2) 离心比色盘 一个离心比色盘有30个或39个比色单元,分别加样品与试剂,手动或自动送入

比色室,离心时样品与试剂混合,在高速旋转中比色。离心式生化分析仪同样属于分立式生化分析仪。

(3)流动池式 流动池光径 1.0 cm,池内容积只有几十微升,可是抽液管道占用较多反应液,又需要反应液去冲洗流动池内残留液体以减少交叉污染,所以反应液至少要 500  $\mu\text{L}$ (终点法)至 800  $\mu\text{L}$ (速率法),试剂消耗量大。终点法的工作速度较快,速率法的反应液需在流动池中监测较长时间,工作速度难以提高。比色杯中反应液需要恒温,比色室恒温可在 37  $^{\circ}\text{C}$ 、30  $^{\circ}\text{C}$  或 25  $^{\circ}\text{C}$  三档中选择,有的固定为 37  $^{\circ}\text{C}$ 。多数用吹入恒温空气的方式,也有用恒温水浴或半导体温控装置的。为了保证比色杯中反应液有  $\pm 0.1$   $^{\circ}\text{C}$  的精确度,分析仪的环境温度必须保持在 18 ~ 30  $^{\circ}\text{C}$ ,室温波动不宜超过 2  $^{\circ}\text{C}$ 。

### 3. 单色器与检测器

(1)干涉滤色片 半高波长宽度有  $\pm 6$  nm、 $\pm 8$  nm、 $\pm 10$  nm,常用 340、380、405、500、540、570、630 nm,有备用窗口。干涉滤色片价格低,旋转方式选择波长容易,用久后易受潮变质,尤其是 340 nm 滤色片。由于干涉滤色片的单色光波长较宽,NADH 在 340 nm 测得的吸光度要比光栅分光式的稍低,如果用葡萄糖的己糖激酶法实测 NADH 的摩尔吸光系数,直接利用文献数值计算 F 值,测得酶活性会偏低。近两年有些分析仪采用先进的光信号数码直接转换技术,它与传统的光路比较,大大减少了噪音对信号的干扰(噪音通常来自其他仪器、电机、电源产生的电磁波),这样就大大提高了检测的精度和可靠性,并保证了超微量检测时数据的稳定性。数码信号由光导纤维传送,保证信号无衰减及干扰。

(2)光栅分光式 无相差蚀刻凹面光栅是当今最先进的全息光栅。分光准确,半带宽小,使检测线性提高。光栅使用寿命长,光栅系统无需任何保养,最多者采用固定 12 种波长,分别为 340、380、410、450、480、520、570、600、660、700、750、800 nm,能满足临床化学检测要求。由于 NADH 吸收光谱曲线的半高宽度约为 60 nm,用其 1/10 宽度的单色光可以得到理想的吸光度(AACC),所以可以直接利用文献的  $6.22 \times 10^6$ 。

光栅分光有后分光与前分光两种方式。过去普遍采用前分光(图 1-1),而现在多采用后分光。过去的光度计,在光源灯和样品杯之间,先要用滤光片、棱镜或光栅分光,通过可调的狭缝,取得与样品“互补”的单色光之后,照射到样品杯,再用一个光电池或光电管作为检测器,测定样品对单色光的吸收量(吸光度)。而后分光(图 1-2)则是将一束自然光(混色光)先照到样品杯,再用光栅分光,然后用检测器检测任何一个波长的光的吸收量。后分光的优点是可同时选用双波长或多波长进行测定,大大降低了“噪声”,提高了分析准确度。光路中无可动部分,也不需移动仪器的任何部件即可选择多个波长,不仅提高了工作效率,减少了故障率,而且显著提高了分析精度。

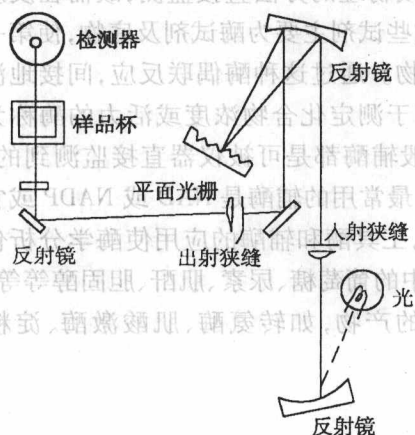


图 1-1 前分光生化分析仪测试原理

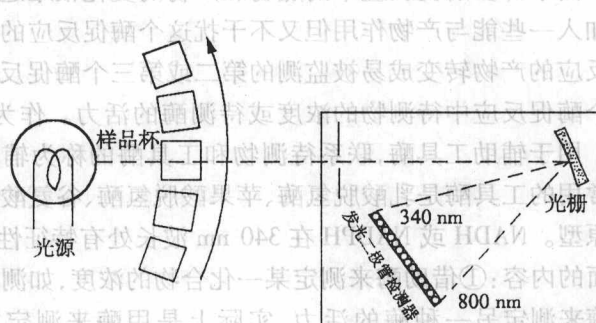


图 1-2 后分光生化分析仪测试原理

4. 分析方法 光谱技术中的可见、紫外吸收光谱法是各类自动生化分析仪对反应过程所应用的分析原理,即都是通过监测一定波长下某一发色基团吸光度的变化,辅以微机软件系统的计算而完成的。可见,紫外吸收光谱法是根据物质分子对于 200 ~ 700 nm 光区电磁辐射的吸收特性进行分析的方法。

其主要特点包括:灵敏度高,能对生物样品中  $10^{-7} \sim 10^{-3}$  /L 的微量物质进行测定;选择性强,由于组分的分子结构不同,它们的吸收光谱也不同,可对生物样品中的单组分或多组分进行分析;精密度和准确度较高,精密度可达 0.2% ~ 0.5%,相对误差可减至 1% ~ 2%。可见,紫外吸收光谱法定量测定试样中一个或几个组分含量的基础是 Lambert - Beer 定律。该定律是说明吸光物质对单色光吸收的强弱与该物质的浓度间的关系。定律经数学推导可表达为

$$A = -\lg T = ECL$$

式中: $E$ ——吸光系数,在给定条件下为物质的特性常数; $T$ ——透光率, $C$ ——所测物浓度; $L$ ——吸收池厚度。该式说明吸光度与浓度或厚度之间是简单的正比关系。

分析仪在测定某个项目时所用的分析方法是根据该项目所用的试剂和方法学而决定的。主要分析方法分为:①两点法;②终点法;③速率法。两点法是测定反应开始后某一时间内( $t_1 - t_2$ )产物或底物吸光度变化进而求取待测物活性或浓度的方法。速率法是连续测定(每 15 ~ 60 s 监测一次)反应过程中某一反应产物或底物的吸光度随时间的变化来求出待测物活性或浓度的方法。本法可将多点测定结果连接成线,因而可自动选择线性反应期来计算酶活力或浓度,所得结果较为准确,该方法对测定仪器的要求较高,需要边保温边测定,同时所测定的产物或底物应是可被直接测定的化合物。近年来,随着检测自动化程度的提高和广泛使用,绝大多数酶活性反应以及代谢物浓度的测定都是采用速率法,如乳酸脱氢酶、转氨酶、转肽酶、碱性磷酸酶、淀粉酶、肌酸激酶、胆碱酯酶等等。终点法是通过测定反应开始至反应达到平衡时产物或底物浓度总变化量来求出待测物活性或浓度的方法。对于有酶参与的反应,不论采取以上哪种方法,都要符合两个原则,即:①在零级反应期测定,使  $v = V_m =$  常数,或底物减少量  $-[s]$  或产物生成量  $[p]$  与反应时间  $t$  成正比;②反应速度与酶量呈线性关系,即  $[E] = -[s]/t = k[p]/t$ 。在测定某一酶活力时,还要考虑影响该酶反应的因素,如:底物浓度、pH、温度和样品中干扰物质等因素。酶活力的大小以酶单位数表示,统一的国际单位为 (IU),一个国际单位为在实验规定的条件下,每分钟催化一微摩尔底物变化所需要的酶量,酶浓度以 IU/L 表示。另一个表示酶活力的单位是 katal (kat),即在最适反应条件下每秒催化一摩尔底物变化所需要的酶量为 1 kat 单位。1 kat =  $60 \times 10^3$  IU。

近年来,由于酶的特性以及工具酶的使用等原因,酶学分析用于生化项目检测越来越普遍。酶的特性决定了酶学分析方法具有高效、专一、温和、灵敏的特点,可实现在一个混合的样品中直接测定所要测定的成分。

由于许多酶促反应中的底物和产物的变化很难通过化学或物理的方法直接监测,故需在反应体系中加入一些能与产物作用但又不干扰这个酶促反应的试剂,这些试剂主要为酶试剂及底物,使第一个酶促反应的产物转变成易被监测的第二或第三个酶促反应的产物。通过这种酶偶联反应,间接地测出第一个酶促反应中待测物的浓度或待测酶的活力。作为试剂用于测定化合物浓度或活力的酶称为工具酶。用于辅助工具酶,联系待测物和工具酶的称为辅酶。一般辅酶都是可被仪器直接监测到的物质。最常用的工具酶是乳酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶、谷氨酸脱氢酶,最常用的辅酶是 NAD 或 NADP 或它们的还原型。NADH 或 NADPH 在 340 nm 波长处有特征性光吸收,工具酶和辅酶的应用使酶学分析包括两方面的内容:①借助酶来测定某一化合物的浓度,如测定体液中的葡萄糖、尿素、肌酐、胆固醇等等;②借助酶来测定另一种酶的活力,实际上是用酶来测定待测酶的产物,如转氨酶、肌酸激酶、淀粉酶等多种酶。

### (三) 温控系统

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  $\pm 0.1$  °C,两种温度能够转换。最初自动生化分析仪都采用水浴,其优点是温度均匀、稳定;缺点是升温缓慢,开机预热时间长,因水质变化(微生物、矿物质沉积)影响测光,因此要定期换水和比色杯。为了加热均匀和防止变质,往往要设置马达和添加防腐剂。后来又采用空气干式浴,其优点是升温迅速,无需保养;缺点是温度易受外界环境影响。目前最先进的是结合两者优点的恒温液循环间接加热

法。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,使恒温系统更加均匀、稳定。升温迅速,不需定时更换与补充恒温液。在比色杯与恒温液间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。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。

#### (四) 供排水系统

自动生化分析仪中有很多供水管道与电磁阀。只读储存器中软件参数控制电磁阀与输液泵供给各个部件的冲洗与吸液,最后排出机外。随机储存器内的分析参数控制电磁阀与注射器的步进马达,供应样品、试剂与稀释水。

对加样探针和比色杯进行正确处理对防止交叉污染很重要。目前有的自动生化分析仪采用新的冲洗系统,就是采用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)式单向冲洗池。水流为从上向下单向冲洗,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。该技术可以改善冲洗效果,提高测试准确性,防止交叉污染。

有的分析仪采用先进的温水8步骤自动冲洗比色杯。使用最新的抽干技术,每次冲洗后残留水量少于 $1\mu\text{L}$ ,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。通过编码盘检测每个比色杯,自动标出不合要求的比色杯,提示进一步处理。比色杯冲洗8步流程为: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→加注温水→吸干(残留水量 $<1\mu\text{L}$ )→擦干、干燥→干净比色杯。比色杯自动冲洗系统非常重要,比色完毕,先由一组抽液管道将比色杯中的反应液抽干,冲洗管道组将温热的去离子水沿比色杯内壁冲入比色杯,以不溢出为度,如此反复冲洗与吸干数次,经透光度检查合格者,比色杯可循环使用。

#### (五) 数据处理系统

每个项目检测的结果暂时储存在随机储存器中,待某样品所需的项目全部检测完毕,由微机汇总打印出综合报告单。微机的储存器中可以储存相当数量的病人数据与逐日的室内质控数据,随时可以按指令调出,在荧光屏上显示或打印,也可储存在软磁盘中长期保存,随时调阅。

### 三、任选式自动生化分析仪的分析工作顺序

每份样品(血清、尿液、脑脊液)可以任选试剂室内预置试剂盒的一项或全部项目的检测。微机按输入的指令安排检测次序,一般先做孵育时间长的终点法,后做监测时间短的速率法,以便恒速打印综合报告单。当指定样品进入待测位置时,微机指令试剂盒进入试剂取样位置,按所测项目的参数由样品臂与试剂臂定量加样。比色杯转盘的样品加样口与试剂加样口分别处在不同位置,如先加试剂则可测试剂的空白吸光度。每加样品与试剂各一次(并非同一项目)为一个加样周期,加样周期的时间决定分析仪的工作速度(离心式与流动池式分析仪例外),如加样周期为15s时工作速度为240试验/h,加样周期为10s时工作速度360试验/h,依此类推。只有一个试剂加样单元的分析仪在做双试剂法添加第二试剂时要占用一个加样周期,工作速度减半。如有第二试剂室与第二试剂加样单元,在另一加样口添加第二试剂,工作速度不减。在连续工作中不论反应慢的终点法,还是反应时间短的速率法,工作速度恒定不变。加样后比色杯转盘旋转,已加样完毕且混匀的反应液通过比色窗口时读取全部波长的吸光度作为一个读数点(15s加样一次者即15s一个读数),所以是全过程读吸光度方式(有的仪器只读指定时间的吸光度而不是全程读数),总反应时间一般为8.5~10min。如15s为一个测试点,10min内有40个测试点,微机按检测项目的分析参数,选择指定波长、不同时间读数点的吸光度做终点法(读一点)、一级速率法(读二点)、零级反应法(至少读4点,得3个 $\Delta A$ ,自动转换成 $\Delta A/\text{min}$ ),读吸光度后按分析参数计算该项目的检测结果,直至该样品指定的项目测试完毕,再安排下一个样品。

双圈比色杯转盘的分析仪有两套单色系统与两套列阵光电检测器,一份样品一次加样 $2 \times 2$ 次,同时加试剂4种(内圈与外圈各2种),加样周期9s,每小时可得400~1600个试验结果。组合式自动分析仪的工作速度更快,一台双圈比色杯转盘的主机,试剂冷藏室存放16种大容量试剂盒,一份样品加样 $8 \times 2$ 次,试剂 $8 \times 2$ 种,每小时可得2640个试验结果。如果同样的主机两台组合,共用一条样品试管传送轨道与一台微机,每份样品测16项,每小时得5280个试验结果。3台各有8种不同试剂盒的主机组合,每份样品测24项,每小时可得7920个试验的结果。组合式分析仪的价格很高。

### 第三节 主要全自动生化分析仪简介

#### 一、日本 OLYMPUS 全自动生化分析仪

##### (一)概况

日本 OLYMPUS 光学工业株式会社有着30年研制及生产大型全自动生化分析仪及其他大型分析仪器的历史与经验。日本第一台全自动生化分析仪是由 OLYMPUS 于1968年生产的。现在 OLYMPUS AU 系列全自动生化分析仪在全世界已有数千台,在全球占有相当广泛的市场。该系列产品具有速度快、节省试剂等特点,自1994年进入中国市场以来已拥有140多家用户。AU 系列生化分析仪处理能力为400~10560测试/h,主要包括以下机型。

1. AU400 全自动系列化分析仪 为 OLYMPUS 1998年推出的先进的随机任选式全自动生化分析仪,分析速度为恒速400测试/h(含ISE为800测试/h)。可同步进行76项(含ISE为79项)分析,试剂用量仅 $150 \mu\text{L}$ 。采用先进的集束式光路、光/数码信号直接转换技术、多头回旋搅拌棒、轨道式进样方式等多项新技术,使仪器设计更完美,结果更准确;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、技术先进的生化分析仪。

2. AU600 全自动生化分析仪 为 OLYMPUS 1996年推出的新型全自动生化分析仪,该机为世界上第一台采用光路系统数码处理技术的生化仪。为生化分析仪20世纪末的最新突破,处理速度为恒速800测试/h(含ISE为1200测试/h)。可同步进行48项(含ISE为51项)测试,试剂量 $150 \mu\text{L}$ 。采用轨道式进样、多头回旋搅拌棒等多项新技术,使仪器设计完美,结果精确。

3. AU1000 全自动生化分析仪 为 OLYMPUS 1997年推出的超大型生化分析仪,速度为1600测试/h(含ISE为2500测试/h),可同步进行40项(含ISE为43项)分析。

4. AU5200 全自动分析仪系列 为全世界速度最快的组合分立式生化分析仪,处理能力2640~10560测试/h,可根据用户的工作量进行多元组合,为多线多通道的组合分立式生化分析仪。

5. AU640 型全自动生化分析仪 体现 OLYMPUS AU 系列全自动生化分析仪的多项优点,是该公司1999年推出的新型号。

6. OLYMPUS 全自动检验实验室 为 OLYMPUS 近年研制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,为今后实验室发展的方向。

##### (二)性能特点

虽然 OLYMPUS AU 系列仪器有不同型号,但它们都具有许多共同的特点。

1. 光路系统 采用 OLYMPUS 全球领先的集束式光路及全息光栅技术,使波长范围更宽,稳定性更高。结合高速全数字化技术,机内通过数字光纤传输检测信号,大大减少了各种干扰,提高了检测精度和速度。运用点光源技术,实现了超微量检测,测试容量低至150以下。

2. 恒温系统 其恒温液循环加温方式,集干式空气浴和水浴的优点。恒温液为热容量高、蓄热能力

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,免定期更换。

3. 搅拌系统 独特的三头双清洗式搅拌系统,搅拌棒为微螺旋式不锈钢,表面采用“特氟隆”不粘涂层,避免液体的黏附,一组搅拌,同时两组清洗,保证搅拌更充分,冲洗更干净,交叉污染减至最低。

4. 探针系统 最新的智能化探针安全系统,探针一旦遇到阻碍,会立即停止运动并报警。AU400 和 AU640 的样品探针更设有探针阻塞报警系统,当探针被样品中的凝块、血脂及纤维蛋白等物质阻塞时,机器会自动报警、冲洗探针,跳过当前样品,进行下一个样品的测量。

5. 急诊转盘 AU400 和 AU640 还有带冷藏装置的 22 位急诊转盘,可随时插入急诊样品,并可设置放入质控物和定标物,无需取出,可随时进行周期定标及质控,适合更高要求的测试。特设有“一触即发”功能,即使毫无操作经验,也能轻松地完成工作。

6. 冲洗系统 比色杯冲洗采用最新 8 步骤冲洗、抽干、风干技术。冲洗水的水温自动控制到与恒温槽温度相近,以保证恒温系统不受供水温度影响,并增加去污力。探针冲洗系统采用最新的激流式冲洗,保证探针不残留污水。

7. 操作系统 操作系统为最新 Windows NT 界面,更方便实现网络工作,全图形化设计,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。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,实现电脑智能化操作。另可选购增加远程通讯功能,即可通过电话线进行远程监控。

### (三) 技术参数、实验参数的选择和确定

要建一个新的实验项目,应首先在 [Parameter] - [Test Parameter Common] - [Test Name] 中,设定新项目的名称,之后在 [Parameter] - [Test Parameter Specific] 中设定反应参数。设定好要建立的项目名称后,可逐项进行参数设置。

1. Sample Vol(样品量) 2 ~ 50  $\mu\text{L}$ ,可以按 0.5  $\mu\text{L}$  为单位增减。Dil Vol(稀释液量),用于稀释样品,并将样品针中残余液体冲下。对于前者,根据反应需要设定;对于后者,通常设定为 10  $\mu\text{L}$ 。

2. Reagent 1 Vol(第一试剂量) 25 ~ 300  $\mu\text{L}$ ,可以按 1  $\mu\text{L}$  为单位增减。Dil Vol(稀释液量),一般用浓缩试剂时才用。

3. Reagent 2 Vol(第二试剂量) 25 ~ 300  $\mu\text{L}$ ,可以按 1  $\mu\text{L}$  单位增减。Dil Vol(稀释量),一般用浓缩试剂时才用。第二试剂是在固定的 10 ~ 11 点之间加入的。

4. Wavelength Pri(主波长)和 Sec.(副波长) 副波长可根据需要选定或不选。测定波长共有 13 种可以选择:340、380、410、450、480、520、540、570、600、660、700、750、800 nm。

5. Method(方法学) 共 6 种:End, Rate, Fixed; End 1, Rate 1, Fixed 1。前三种与后三种的差别为:前三种是以试剂为空白的,后三种是以比色杯为空白的。End:终点法;Rate:速率法;Fixed:固定时间法。

6. Reacton(反应方向) (+)正向,(-)负向。

7. Fst Point 1 - Lst Point 1 定义读取吸光度值的第一点及最后上点,可选择 0 ~ 27 共 28 点,每点间隔时间 18 s。对于终点法,一般 Fst Point 1 选 0, Lst Point 1 选 27。对于速率法,则应根据反应情况来定。

8. Fst Point 2 - Lst Point 2 用于双试剂时,一般设在加入第二试剂前。

9. Linearity(线性度) 通常选 15%。线性度以百分比表示,它定义了速率法中吸光度相对于时间变化的可以接受的线性程度。

10. No - Log Time 通常选 Yes。选 Yes 时,当读数点吸光度超出所设定的最大最小 OD 值时,分析仪器则不考虑已设定的读数点,而是找到反应过程中具有最大斜率处读数并计算。

11. Min OD 和 Max - OD(定义吸光度限) 用于指示动力学法底物的消耗。Min - OD 表示负向反应所需要的吸光度值。Max - OD 表示正向反应吸光度最大值的上限。

12. Reagent OD Limit(试剂空白 OD 限) Fst 指的是 0 点, Lst 指的是 27 点。



13. Correlation factor(相关因子) 若需要对结果进行调整,计算可按公式  $Y = AX + B$  给出 A、B 值,按此公式计算出最终结果。

14. Dynamic Range(动态范围) 有效反应的线性范围,应根据试剂盒来设定。

15. ON BOARD STABILITY PERIOD 有条码的试剂在仪器上的稳定期。

16. Norml Range(正常值范围) 可以根据性别、年龄来设定正常值,但在输入样品时要指定这个样品的性别、年龄。如果没有选,用 None selected。

17. Out of Range(超出范围) 一般指超过人体可测定的范围。

18. Panic Value(危险值) 若结果超出危险值,提示符号 P 出现在结果中,应立即与临床医生联系。

19. Unit(单位) 打印输出时的单位,可自行录入。

20. LIH(参数) 设定范围后,用以提示标本的溶血、黄疸和脂血程度。

#### (四) 重复参数

1. Repeat Common 用以设定出现何种情况时去重做,例如没有吸到样品,结果超出线性范围,反应超过吸光度界限等,仪器会自动重做。

2. Repeat Specific 在 Repeat Run 状态下用来设定 Dilution Volume 稀释体积与 Condense Volume 浓缩体积。

#### (五) 校正参数

1. Calibrator 用来记录校正品在黄色架子上的位置。

2. Calibrator specific(校正参数) 对于新项目,应正确设定此参数。Calibration Type 校正方式共 15 种,1~7MB,AA,1~7AB。A 开头为自动计算因数的方法,M 开头为手工输入因数的方法。Calculation Type 计算方法共有 10 种: $Y = AX + B$ ;  $X = AY^2 + BY + C$ ; POLYGONALLINE;  $Y = AX^3 + BX^2 + CX + D$ ;  $X = AY^3 + BY^2 + CY + D$ ; 6~9 为酶免方法;常规生化项目一般用单点校正模式 A:  $Y = AX + B$ 。

Counts 指进行校正时校正品及试剂空白的次数。选 1,则只依赖一个值;选 2,则取两个数的均值;选 3,取最接近两个数的均值;选 4,则除去最大值和最小值,取另外两个数值的均值。一般情况下我们选 2。

Factor/OD L-H 对校正后因数的限制,如单点校正是对 K 值的限制,多点校正是对 OD 值的限制。

3. TAT Table Calibration 一般用急诊台校正时才应用。

4. 设置试剂 操作者可根据工作量与反应需要更改试剂位置,可放 30 mL 的小瓶和放 60 mL 的大瓶。

## 二、美国 BECKMAN 全自动生化分析仪

### (一) 概况

贝克曼(BECKMAN)公司是一家历史悠久的公司,一向以生产和销售临床化学分析仪器在国际上驰名。贝克曼仪器公司创立于 1935 年,至今已拥有多于 200 项的尖端科技发明及创造,生产的仪器在我国市场占有相当大的份额。1998 年贝克曼公司又同另一家国际知名的库尔特(COULTER)公司合并,成立更具规模的贝克曼库尔特公司,实力进一步壮大。

### (二) 功能及特点

1. BECKMAN CX 系列全自动生化分析系统 进入 20 世纪 90 年代以来,贝克曼推出 SYNCHRON CX 系列全自动生化分析仪,该系列仪器进一步提高了仪器自动化程度。CX 系列具有不同的型号,包括 CX<sub>3</sub>、CX<sub>4</sub>、CX<sub>5</sub>、CX<sub>7</sub> 等。每个型号都具有独特的性能,供用户选择使用。它们的基本配套组成为纯水器—主机—操作电脑系统—中文处理系统。

(1) 设计原理 CX 属任选分立式设计,比 20 世纪 80 年代的离心式产品更具可靠性、稳定性和数据重复性,通过各关键部件的协调工作使得测试得以完美进行。该类仪器适合于酶、基质、特定蛋白、电解