



# 全自动生化分析仪

## Chemray 240

**张海燕**

**zhy2009@ustc.edu.cn**

**中国科学技术大学生命科学实验中心**

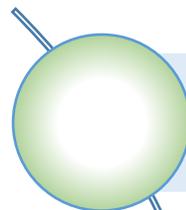
**<http://biotech.ustc.edu.cn>**

**20210413**

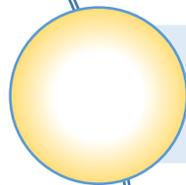




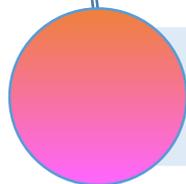
# 主要内容



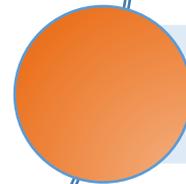
基本原理



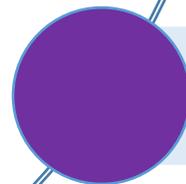
仪器结构



仪器应用



问题分析

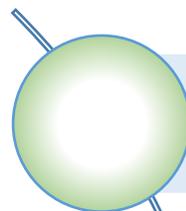


上机

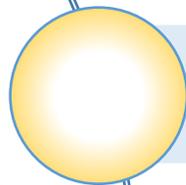




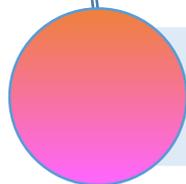
# 主要内容



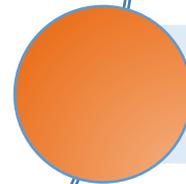
**基本原理**



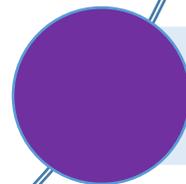
**仪器结构**



**仪器应用**



**问题分析**



**上机**





# 一、基本原理

## 朗伯比尔定律

➤ **公式：**  $A = \lg(1/T) = Kbc$

**A**为吸光度, **T**为透射比(透光度), 是出射光强度 ( $I$ ) 比入射光强度 ( $I_0$ )。

➤ **K**为摩尔吸收系数. 它与吸收物质的性质及入射光的波长  $\lambda$  有关。

**c**为吸光物质的浓度, **b**为吸收层厚度, 该仪器比色杯厚度为1cm。

➤ **物理意义：**

➤ 物理意义是当一束平行**单色光垂直**通过某一均匀非散射的吸光物质时, 其吸光度**A**与吸光物质的浓度**c**及吸收层厚度**b**成正比。

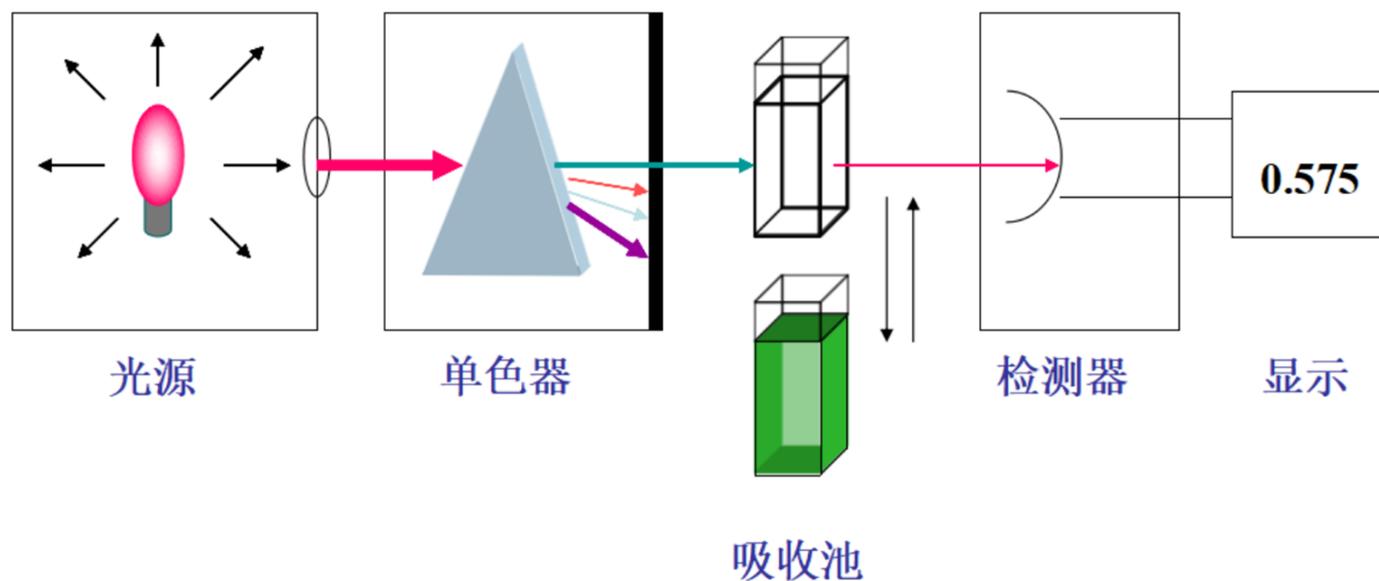
➤ **朗伯比尔定律适用于可见光, 紫外光, 红外光, 以及均匀非散射的液体。**





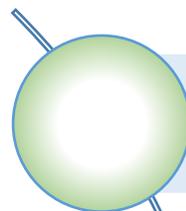
# 全自动生化分析仪

基于朗伯比尔定律，通过检测吸光度变化来得出待测液体浓度的检测平台。全自动的意义在于用仪器编程的方式，代替人工手动加样；避免了人为误差，提高了检测的通量、精密度以及时效性。

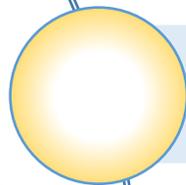




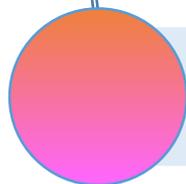
# 主要内容



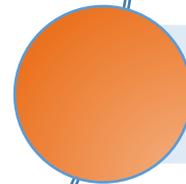
基本原理



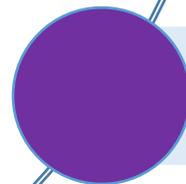
仪器结构



仪器应用



问题分析



上机





## 二、硬件结构



全自动生化分析仪

装载系统

加样系统

光路系统

恒温系统

清洗系统



# 装载系统

主要包括三盘：样品盘、试剂盘、反应盘。

装载系统主要是指试剂和样品以及反应杯所在的位置装置。这些装置不但要承载试剂、样品和反应杯，而且在生化仪工作过程中需要不停的精确运转，以配合加样系统，协调完成自动检测。





# 加样系统

主要是指三针：加样针、试剂针、搅拌针。

加样系统是生化仪各部件中**要求最高**的组成部分，是准确定量和减少交叉污染的关键所在。所以这部分的**技术含量**也是最高的部件之一。

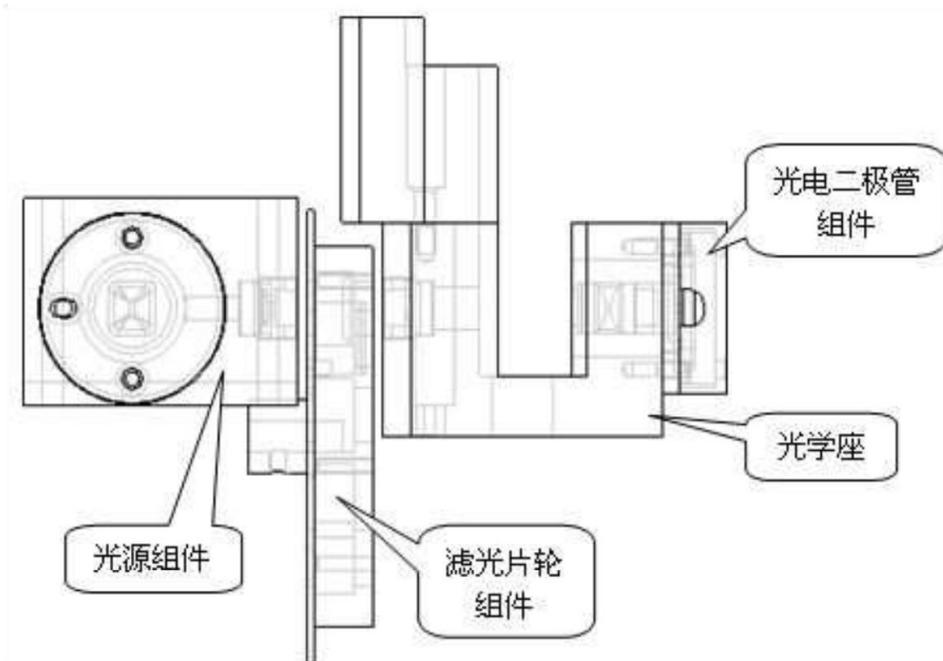
1. 纳米抛光
2. 加样注射器每次工作的精准步数
3. 立体防撞以及智能变频加样技术
4. 凝块检测以及防堵排堵功能
5. 强力真空脱气装置





# 光路系统

包括：光源、分光装置、比色杯（反应杯）、信号检测器等。



分光方式:前分光

卤素灯:12V, 20W

标配滤光片:340、405、450、510、  
546、578、630、670

比色杯光径 $10 \pm 0.02$ mm



# 恒温系统

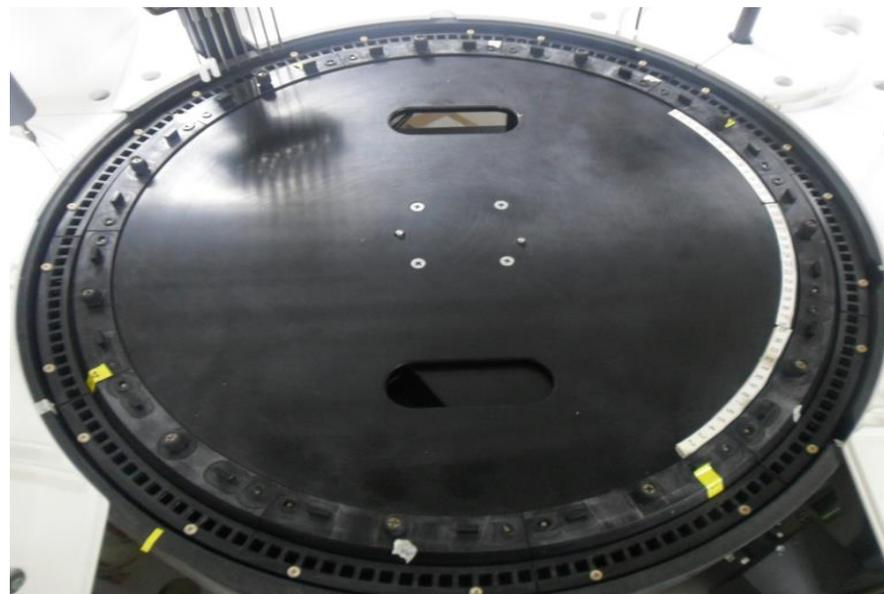
循环式半导体水媒介制冷技术，为试剂仓内试剂提供稳定冷藏温度，同时能够通过循环系统带走机器运行时产生的高温，保证机器高效运转。

半导体水媒介循环制冷 (Rayto)



固体植热技术，  
快速恒温 $37 \pm 0.1^\circ\text{C}$

全自动生化分析仪反应盘 (Rayto)

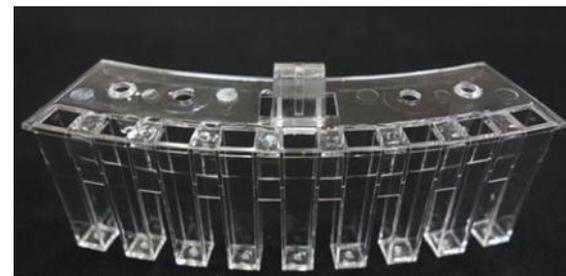




# 清洗系统

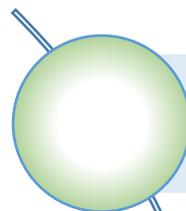
一般是指**反应杯的清洗系统**。广义的清洗系统也包括加样系统中**三针（试剂针、加样针、搅拌针）的清洗**。

使用**一次性的九连比色杯**，避免了反应和检测体系的污染。

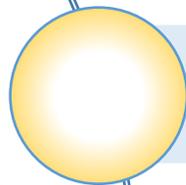




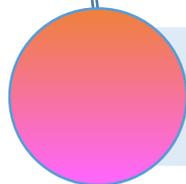
# 主要内容



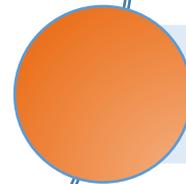
基本原理



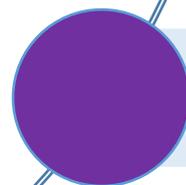
仪器结构



仪器应用



问题分析



上机





## 三、仪器应用

主要用于临床检验肝功、肾功、心肌酶谱、血糖血脂等生化指标。





# 3.1 常规检测项目

**肝功能:** ALT 丙氨酸氨基转移酶  
 AST 天门冬氨酸氨基转移酶  
 ALP 碱性磷酸酶  
 GGT 谷氨酰转肽酶  
 TP 总蛋白  
 ALB 白蛋白  
 TBIL 总胆红素  
 DBIL 直接胆红素  
 TBA 总胆汁酸

**肾功能:** BUN 尿素氮 (UREA 尿素)  
 CREA 肌酐  
 UA 尿酸  
 β2-MG β2微球蛋白  
 CYS-C 胱抑素C

**血脂:** TC 总胆固醇  
 TG 甘油三酯  
 HDL 高密度脂蛋白  
 LDL 低密度脂蛋白  
 APOA 载脂蛋白A  
 APOB 载脂蛋白B

**心肌酶谱:** CK 肌酸激酶  
 CKMB 肌酸激酶同工酶  
 LDH 乳酸脱氢酶  
 HBDH α羟基丁酸

**糖及糖代谢:** Glu 血清葡萄糖  
 GHb 糖化血红蛋白  
 FMN 果糖胺  
 C肽

**风湿三项:** CRP 超敏C反应蛋白  
 RF 类风湿因子  
 ASO 抗链球菌O抗原

**电解质:** 钾K 钠Na 氯Cl 需要ISE机构

**其他:** 淀粉酶AMY  
 尿淀粉酶UAMY  
 尿蛋白UTP  
 肌红蛋白MYO  
 脑脊液蛋白

等等。。。。。

**注意: 用户自备试剂盒;  
 试剂盒必须是适配全自动生化分析仪的。**





# 丙氨酸氨基转移酶ALT：

谷丙转氨酶（ALT）主要存在于各种细胞中，尤以肝细胞为最，整个肝脏内转氨酶含量约为血中含量的100倍。

正常时，只要少量释放入血中，血清中其酶的活性即可明显升高。

在各种病毒性肝炎的急性期、药物中毒性肝细胞坏死时，ALT大量释放入血中，因此它是诊断病毒性肝炎、中毒性肝炎的重要指标。肝细胞内谷丙转氨酶的浓度比血清高1000～3000倍。

只要有1%的肝细胞坏死，便可使血中酶活性增高1倍，因此转氨酶（尤其是ALT）是急性肝细胞损害的敏感标志。



# 天门冬氨酸氨基转移酶AST：

谷草转氨酶（AST）**主要分布在心肌，其次是肝脏、骨骼肌和肾脏等组织中。**

正常时血清中的AST含量较低，但相应**细胞受损时，细胞膜通透性增加，胞浆内的AST释放入血，故其血清浓度可升高。**

临床一般常作为心肌梗死和心肌炎的辅助检查。

谷草转氨酶的正常值为0～40单位/升，当谷草转氨酶明显升高，谷草转氨酶/谷丙转氨酶（ALT）大于1时，提示有肝**实质**的广泛损害，预后不良。



# 总胆红素TBIL:

血清中的胆红素大部分来源于**衰老红细胞**被破坏后产生出来的**血红蛋白**衍化而成，在肝内**经过葡萄糖醛酸化的**叫做**直接胆红素（DBIL）**，未在肝内**经过葡萄糖醛酸化的**叫做**间接胆红素（IBIL）**，二者的和就是总胆红素。

临床上主要用于诊断**肝脏疾病和胆道梗阻**，当血清总胆红素有很大**增高时**，**人的皮肤、眼睛巩膜、尿液和血清呈现黄色**，故称**黄疸**。当肝脏发生炎症、坏死、中毒等损害时均可以引起黄疸，胆道疾病及溶血性疾病也可以引起黄疸。总胆红素增高，见于**中毒性或病毒性肝炎、溶血性黄疸、恶性贫血、阵发性血红蛋白尿症**。

**红细胞增多症、新生儿黄疸、内出血、输血后溶血性黄疸、急性黄色肝萎缩**。





# 直接胆红素DBIL:

直接胆红素 (DBil) 又称**结合胆红素**，是由间接胆红素进入肝后受肝内葡萄糖醛酸基转移酶的作用与葡萄糖醛酸结合生成的。

**直接胆红素溶于水，与偶氮试剂呈直接反应，能通过肾随尿排出体外。**

肝脏对胆红素的**代谢**起着重要作用，包括肝细胞对血液中间接胆红素的摄取、结合和排泄三个过程。

血清直接胆红素的升高，说明**经肝细胞处理后胆红素从胆道的排泄发生障碍**。直接胆红素的测定有助于黄疸类型的诊断和鉴别诊断。





# 尿素氮BUN:

即指“血尿素氮”，血浆中除蛋白质以外的一种含氮化合物，它从肾小球滤过而排出体外。在肾功能不全失代偿时，BUN将升高。所以临床以将其作为判断肾小球滤过功能的指标。

# 肌酐 CREA:

肌酐 (creatinine, Cre) 是肌肉在人体内代谢的产物，主要由肾小球滤过排出体外。每20g肌肉代谢可产生1mg肌酐，在肉类食物摄入量稳定时，身体的肌肉代谢又没有大的变化，肌酐的生成就会比较恒定。

血中肌酐来自外源性和内源性两种，外源性肌酐是肉类食物在体内代谢后的产物；内源性肌酐是体内肌肉组织代谢的产物。

血清肌酐的浓度变化主要由肾小球的滤过能力（肾小球滤过率）来决定。滤过能力下降，则肌酐浓度升高。血肌酐值高出正常值多数意味肾脏受损，血肌酐能较准确的反映肾实质受损的情况，并非敏感指标。因为肾小球滤过率下降到正常人1/3时，血肌酐才明显上升。

由此也可以说，因为人体肾脏代偿能力强，当肾脏损伤较轻时一般人不适感觉不明显，所以很多人当真正出现恶心、呕吐、头晕时，其实肾脏已经损伤严重，此时血肌酐也开始明显上升。





# 血清甘油三酯 TG:

甘油三酯是一分子甘油和三分子脂肪酸缩合而成的酯类，是人体能量贮存的重要形式，又称中性脂肪。甘油三酯来自膳食，但更多由肝、脂肪组织及小肠合成。在血清中，**内源性甘油三酯主要以极低密度脂蛋白的形式运输**，**外源性甘油三酯主要以乳糜微粒的形式运输**。

## 1.生理性增高

生理情况下，血清甘油三酯有随年龄增长而升高的趋势。另外还见于高脂肪饮食、高热量饮食、吸烟、大量饮酒、长期禁食及妊娠中后期等。

## 2.病理性增高

(1) **高甘油三酯血症与冠心病发病率呈正相关**。在高甘油三酯、低高密度脂蛋白综合征中，甘油三酯是冠心病的独立危险因子。

(2) 甘油三酯增高还见于肥胖症、动脉硬化、梗阻性黄疸、重度贫血、甲状腺功能减退、糖尿病、肾病综合征、胰腺炎、心肌梗死、妊娠及口服避孕药、糖原储存障碍性疾病。

(3) 脂肪肝、慢性肝炎轻度、慢性肝炎中度、原发性胆汁性肝硬化、酒精性肝硬化、肝外阻塞性黄疸时血清甘油三酯均可明显升高

**3.病理性减低**：慢性阻塞性肺疾患、营养不良、吸收不良综合征、甲状腺功能亢进症。





## 3.2 方法建立

### 定标：

拟合校准曲线的过程叫做定标，定标得到的曲线叫做定标曲线或校准曲线，是生化仪的**工作曲线**。

**工作曲线的作用：每次测定的均是样品吸光度，工作曲线可以将吸光度直接换算为浓度。**

### 定标流程：

- 1.使用定值浓度的校准品，由生化仪对其进行吸光度检测。
- 2.根据朗伯比尔定律，可以对应浓度和吸光度，并获得相应线性函数。
- 3.得到的线性函数曲线即是校准曲线，依据校准曲线横纵轴关系，便构成了生化仪的基本工作曲线。

**正确的定标是获得准确测值的必须性也是关键性步骤。**





## 定标的基本释义：

➤ 根据朗伯比尔定律： $A=Kbc$

即  $c=A/Kb$

已知A是机器测出的

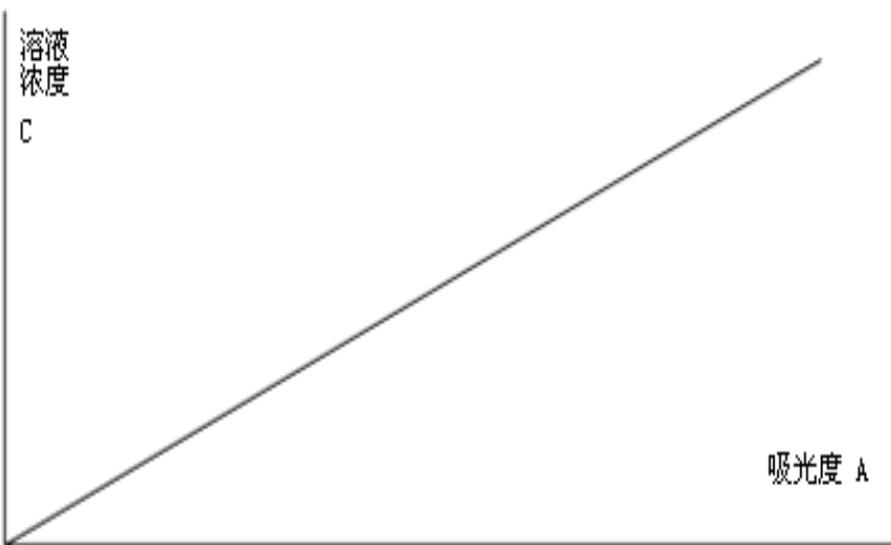
b为常数（机器性能）

则  $1/Kb$  可以看成系数K

此处的K即为 **定标系数**。

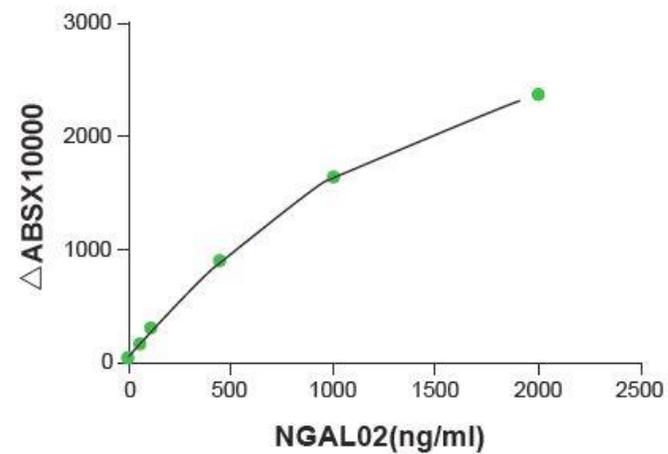
➤ 对于一般全自动生化仪，为了排除水质，试剂本底等基本干扰，还会用到A0值，即试剂本底，在具体检测运算中会进行消除处理。

# 定标曲线:



两点定标

Conc. (ng/ml)	$\Delta$ ABS X10000
0	44
0	47
55	175
55	152
100	304
100	304
500	896
500	908
1000	1635
1000	1669
2000	2359
2000	2403



全点定标



## 3.3 反应过程

即**反应曲线**，即纵轴为ABS（吸光度），横轴为时间（或者周期）的曲线体系，通过反应曲线的走向，波动或是其他异常，往往可以直观地判断出可能存在的问题，对于一个有经验的实验室操作人员或者应用工程师可以从曲线中很快分析出检测结果异常的原因。





# 反应曲线分类：

➤ 不同的仪器平台可能选择了不同的反应模式，导致了反应曲线的多样性，但是无论采用了什么样的反应模式，反应曲线都可以归结为以下两类：

1. 终点法

2. 速率法





**终点法：**反应物完全被转化成产物，反应达到平衡状态即达到终点，取反应终点的吸光度来计算被测物质的浓度。

- 1、**一点终点法：**取反应达终点时的一个点的吸光度来计算结果。
- 2、**两点终点法：**取反应尚未开始时读取一个点的吸光度，待反应达终点时再取第二点的吸光度。用第二点吸光度减去第一点吸光度的差值来计算结果。主要用于扣除试剂和样品空白，保证结果的准确性。一般**双试剂**用。

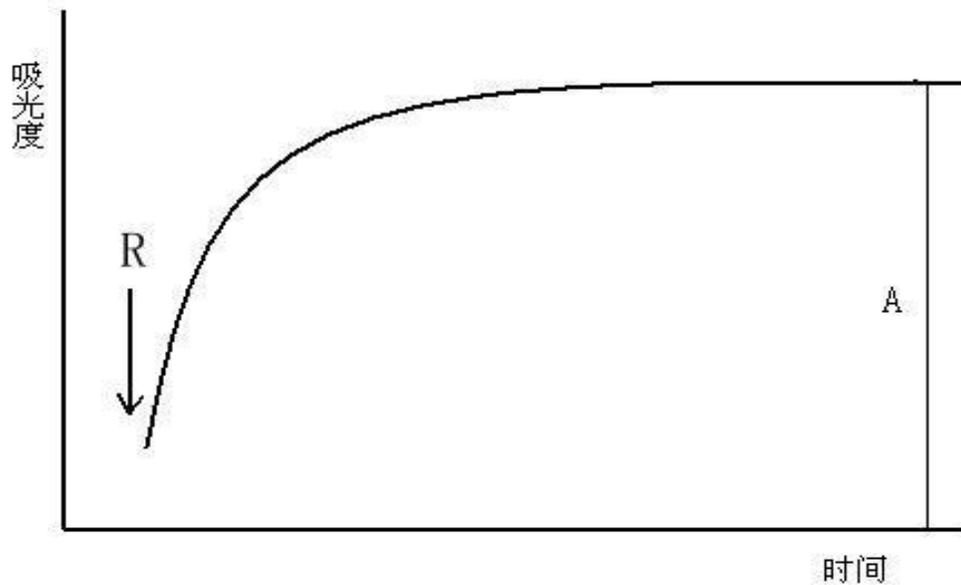
◆**终点法**是最常见的检测方法。



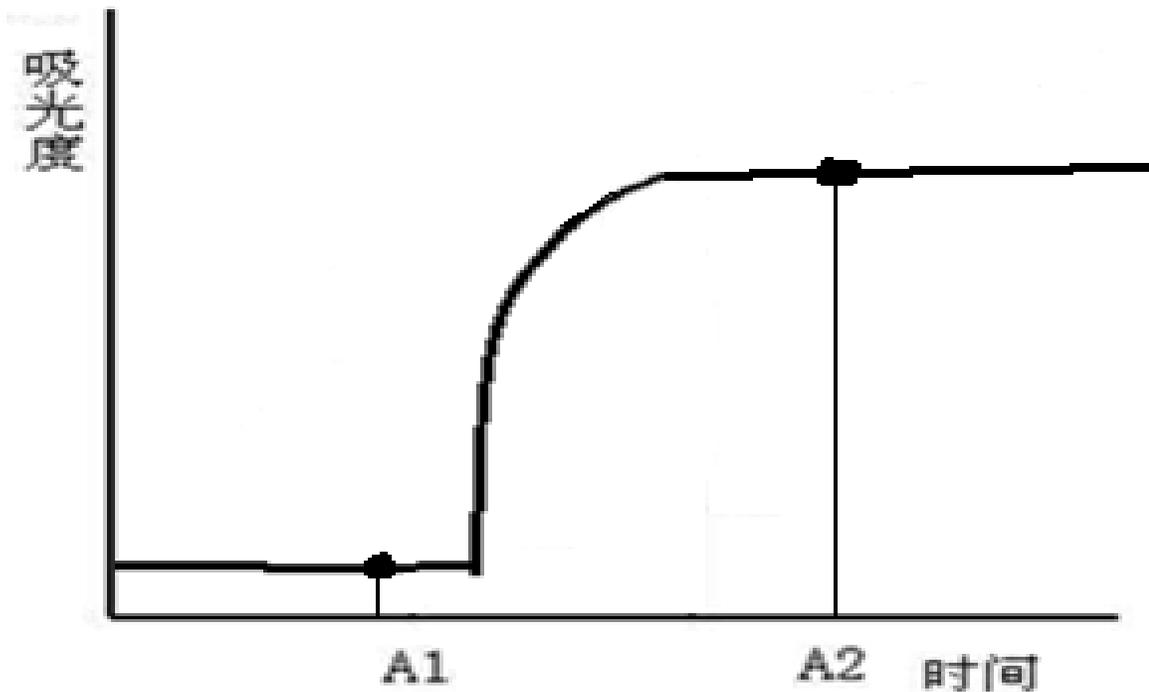


# 终点法:

## 一点终点法示意图:

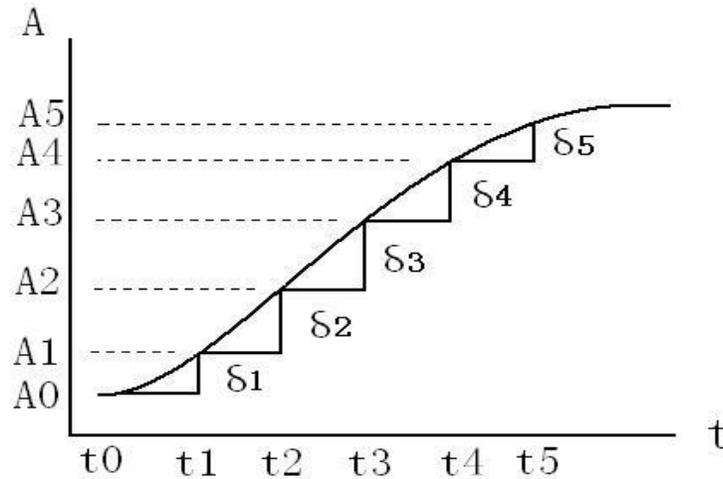


## 两点终点法示意图:



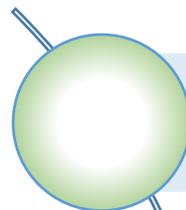
# 速率法 (连续监测法、动力学法)

通过测定产物生成或底物消耗的速度来确定酶的活性。在有酶参与的反应中，底物是参与生化反应的物质，在酶的催化作用下转化为产物，浓度计算公式中引入了反应速率方程。

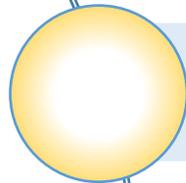




# 主要内容



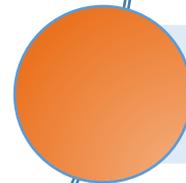
基本原理



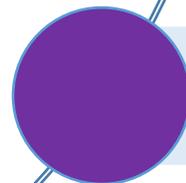
仪器结构



仪器应用



问题分析



上机





# 质控分析：

可以很直观地发现仪器或试剂可能存在偏离，从而做出相应调整。

质控品一般是呈干粉的，目的是保证其有效期，对质控品质量的把握也尤为重要，首开的质控品需要严格按照说明书加去离子水溶解，并静置溶解足够时间，质控品的储存，溶解后的质控品必须做到冻存，且不可反复冻融，对于冻融的质控品需要回复至室温后再行实验。





# 定标分析：

定标曲线是全自动生化分析仪的工作曲线，而**定标曲线所代表的仪器和试剂状态是当时定标时候的仪器和试剂状态**，全自动生化分析仪在工作一段时间后，实验环境会发生变化，而其本身也可能会有微量的机械变动，生化试剂的浓度，作用效应等更是会在效期内发生各种变化，因此，定标工作曲线不是一成不变的，而是不断变化的。

定标品本身也是具有固定浓度的干粉物质，其溶解，保存规则基本和质控品一致，而值得注意的是，因为定标品的作用是**为机器制定工作曲线**，其浓度的精度要求是十分高的，所以一般**定标品的效期远远短于质控品**，不可以为了节约成本而使用效期外的定标品，一般定标品的效期需要具体询问试剂厂家技术支持。

**提示！一般大量出现吸光度超出线性范围等报警，应该结合定标曲线考虑定标曲线是否过期。**





# 标本分析：

以临床标本为例：

1. **非生化专用的抗凝管，其添加剂可能会影响实验结果。如EDTA-k2的紫管会影响ALP的检查。**
  2. **异常标本对实验体系会产生影响，如标本出现乳糜，影响测光，当标本溶血时，则因细胞内液渗出，导致K离子检查异常。**
  3. **标本因离心不充分导致纤维蛋白凝块堵孔或吸样异常，从而影响检测结果。**
- 等等。。。**





### 红色试管帽采血管

采血管中不含任何添加剂，适用于常规生化血清检验，对检验结果无影响，缺点：离心不到位或者温育时间不够，容易形成纤维蛋白，容易堵塞设备针孔。

### 橘红色试管帽采血管

采血管中添加了促凝剂，能够激活纤维蛋白酶，促使可溶性纤维蛋白能够形成稳定的纤维蛋白凝块，采到的血，能快速离心出来，一般适用于医院的一些急诊实验。

### 紫色试管帽采血管

采血管中含EDTA-K2抗凝剂，一般采取喷雾制作，使得抗凝剂均匀分布管壁，制备标本为全血，一般适用于常规的血液学检测。

### 绿色试管帽采血管

也叫肝素管，采血管中含有肝素钠（锂），肝素直接具有抗凝血酶的作用，可延长标本凝血时间，一般适用于常规生化和急诊血浆检测，对某些特殊生化项目有一定影响，不适合做血凝和血常规实验。

### 黄色试管帽采血管

采血管内添加有惰性分离胶，标本离心后，分离胶使血液中的血清和血细胞彻底分开，保存时间较长，适用于急诊血清生化检测

### 黑色/蓝色试管帽采血管

蓝色一般用于凝血机制检测，黑色一般是特殊管，大多用于血沉检测，内未枸橼酸钠，毒性小，同样适用于血液保存。





**测试样本不是全血，而是血清**

**样本量根据测试项目的类型和个数准备，75ul是保底进样针能采到的量，采样针检测到液面后在下移3mm。**

**样本量不够的时候可以用生理盐水或PBS稀释。**





# 试剂分析：

- 1.试剂是否足量？
- 2.试剂是否在效期内？
- 3.效期内试剂是否依然有效？（导致试剂失效的原因？）
- 4.试剂本身的干扰因素（测试顺序问题导致的污染）



# 硬件分析：

- 1.关注报警信息，排除软件试剂等问题
- 2.关键部位检查，机器运行是否正常，各部件是否按正常机械步骤运行
- 3.光亮检查
- 4.反应体系检查：水槽，反应杯，恒温系统等。
- 5.堵针？半堵？  
等等。。。。

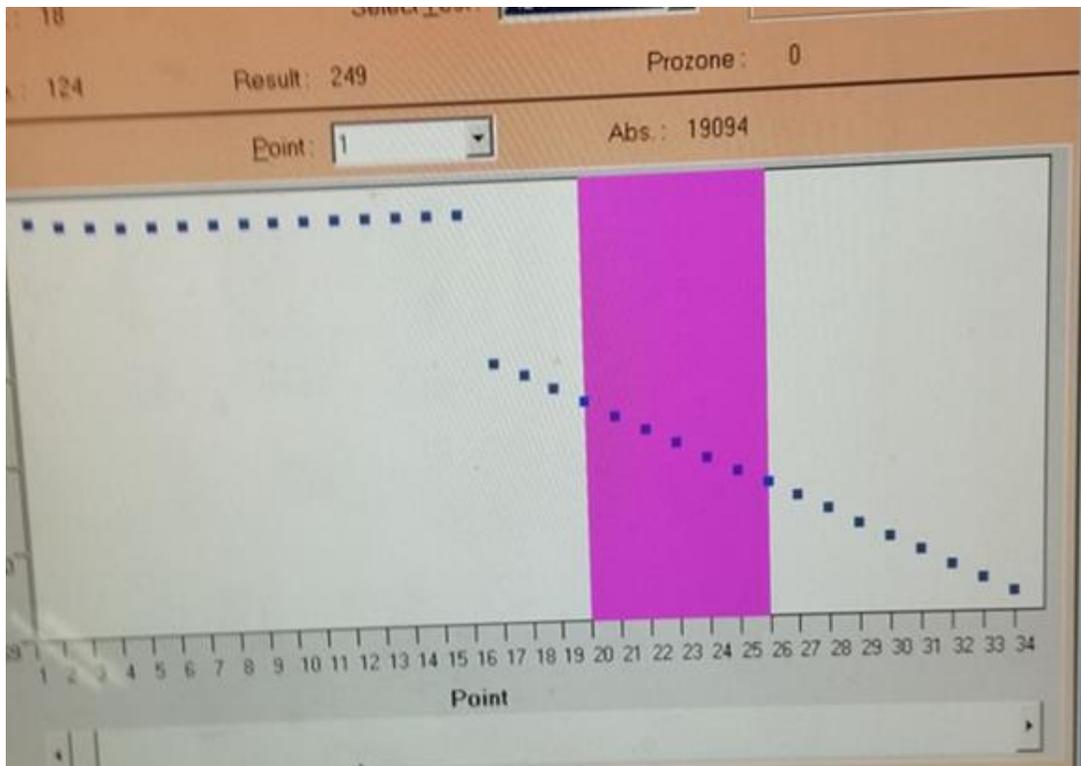
确定为硬件问题，应该如何处理？

**正确方法：工程师救命啊!!!**

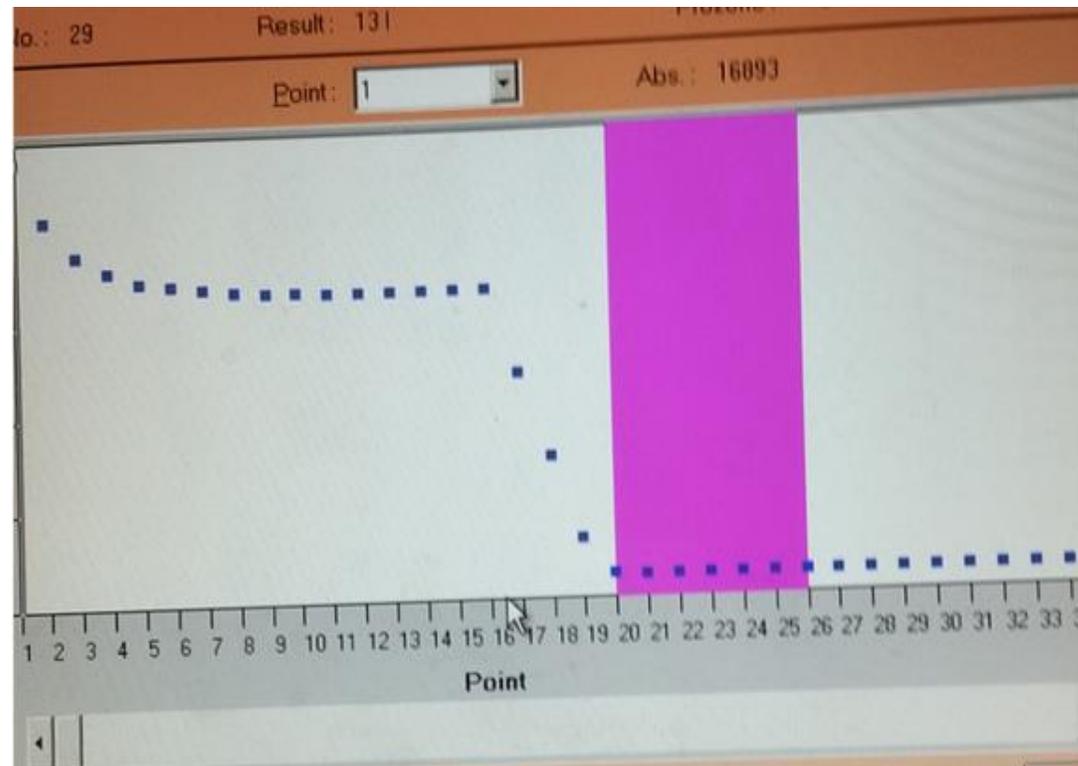


# 问题:

两图检测项目均为ALT，根据正常曲线，简单分析异常曲线的原因。



正常曲线



异常曲线



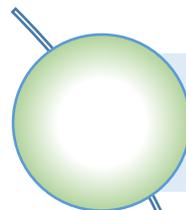
## 答案：

**底物耗尽：**就是在线性反应期进行测定时，酶的浓度过高，在测定点范围内出现底物被耗尽了，导致检测不到吸光度的变化，曲线表现为过度反应后出现不再反应。

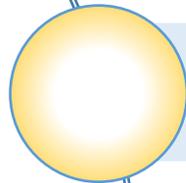




# 主要内容



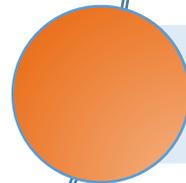
基本原理



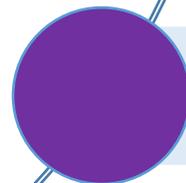
仪器结构



仪器应用



问题分析



上机





# 谢谢大家

---

