

基于连续光谱分析的微型生化分析仪及临床试验

胡松, 温志渝, 梁玉前, 杜晓晴, 张波

重庆大学光电工程学院微系统研究中心, 重庆 400044

摘要 介绍了一种基于连续光谱分析的微型生化分析仪及其相应的临床试验。该微型生化分析仪采用后分光设计, 具有杂散光小、连续光谱(340~770 nm)实时测量、体积小、重量轻、样品和试剂消耗量小、检测快速直观等优点, 在急诊、中小医疗机构和战地救护、医学研究中有很好的应用前景。试验中选取了临床检验中具有代表性的检测项目(如尿酸, 总胆固醇和血清白蛋白等), 以医院当日的检验标本为试验样本, 与医院的标准生化分析仪器(Olympus AU 2700 全自动生化分析仪、美国雷杜公司半自动生化分析仪 RT-1904C, Beckman 公司 LX-20 全自动生化分析仪)进行对比测试和分析。试验结果表明, 该微型生化分析仪器已达到临床应用的要求。

主题词 分析仪器; 微系统; 生化分析; 吸收光谱

中图分类号: TH83 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2006)09-1769-05

引言

生化分析仪作为一种重要的现代分析仪器, 已广泛地应用于医疗机构的临床诊断和医学研究中。基于光谱分析类生化分析仪的工作原理是通过测量溶液的吸收光谱来对被测样品进行定性和定量分析的, 一般采用单色仪或是滤色片来获得单一波长的光波。采用单色仪的生化分析仪, 不论是手动还是机械自动扫描都无法实现对全光谱进行实时或动态的采集分析, 并且这种设备通常体积较为庞大; 采用滤色片的生化分析仪可以实现较小的体积, 但只能完成对某几种特定波长的测量, 不能实现全波长的动态或实时检测。而在实际应用中, 急诊、中小医疗机构、医学研究及战地救护非常需要一种微小型化的、信号采集实时化的以及光谱分析智能化的生化分析仪, 因此研制一种体积小、使用方便、可实现动态或实时检测的生化分析仪有着重要的实际意义。针对以上的问题, 我们在前期研究的基础上^[1-6], 研制了一种实用化的微型生化分析仪, 它具有体积小、结构紧凑、便于携带、样品和试剂消耗量小, 能对 340~770 nm 光谱范围实现动态/实时采集处理和同时实现多组分的定性定量检测等特点, 能完成医院目前肝功能、肾功能和血脂等几十种主要检测项目。

1 微型生化分析仪

该微型生化分析仪(Micro biochemical analyzer)主要由光源、带恒温系统的流动样品室、微型光纤光谱仪、信号采集系统和计算机软件系统组成。被测溶液通过微泵的驱动, 注入到流动样品室, 光源的光透过有被测对象的流动样品室后, 通过光纤耦合进微型光纤光谱仪进行分光, 由 CCD 探测器探测光谱信号并以视频信号输出, 通过信号采集卡和 USB 接口与计算机相连, 从而完成对数据的采集, 最后由计算机软件系统实现对光谱信号的处理与分析。

通过重庆医疗器械质量检验中心的检验, 该微型生化分析仪的主要性能指标为: 光谱范围 340~770 nm, 光谱带宽 ≤ 2 nm, 波长准确性 $\leq \pm 1$ nm, 波长重复性 ≤ 1 nm, 杂散光 $\leq 0.1\%$, 仪器稳定性 $\leq 0.003 \cdot \text{h}^{-1}$, 重量 ≤ 2 kg(一般的半自动生化分析仪的重量在 10 kg 以上)。图 1 是正在工作中的微型生化分析仪的实物照片。

1.1 微型光纤光谱仪

微型光纤光谱仪是微型生化分析系统的核心部件之一, 为了满足微型生化分析仪实用化的需要, 我们对研制的微型光谱仪^[7]进行了改进, 对光路和光栅进行了优化设计, 进一步提高了其光谱分辨率, 并将其光谱范围向紫外进行了拓展。改进后, 其体积只有 40 mm × 40 mm × 60 mm, 并内置了 CCD 驱动电路、光谱信号采集电路等。其中, 最主要的指标

收稿日期: 2005-10-16, 修订日期: 2006-02-16

基金项目: 国家“863”项目(2004AA404023), 科技部国际合作项目(2004DFA00600)和重庆市科委项目(CSTC, 2005CF2002)资助

作者简介: 胡松, 1971 年生, 重庆大学光电工程学院博士

光谱带宽的测试如下: 在采用 50 μm 的光纤时, 对汞灯的特征谱线进行测试, 微型生化分析系统光谱带宽测量结果如表 1 所示, 图 2 是对这几条谱线的实测图。从数据可以分析出, 光谱带宽小于 1.2 nm, 已能很好满足生化分析仪对光谱分辨率的需要。需要说明的是, 在 365.48 nm 附近, 汞灯的光谱还存在 2 条谱线: 365.02 和 366.30 nm。而该微型光谱仪在使用 50 μm 光纤时, 无法分辨这 3 条谱线, 因此形成了带宽为 1.63 nm 的一根谱线。

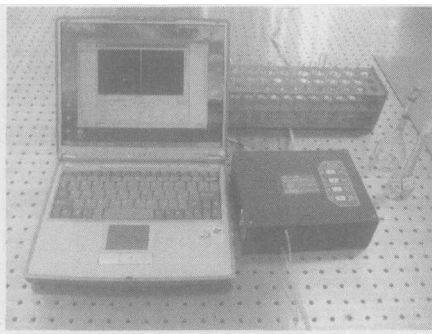


Fig 1 Micro biochemical analyzer

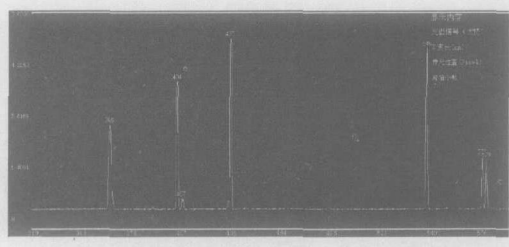


Fig 2 Spectrum of mercury arc lamp

Table 1 Spectrum half width

波长/nm	365.48	404.66	435.85	546.07	577	579.07
带宽/nm	1.63	1.17	1.15	1.11	0.88	1.09

1.2 自动恒温流动样品池

自动恒温流动样品室是微型生化分析系统的另一个主要组成部分, 其基本结构如图 3 所示, 1 为光源, 由于微型光谱仪设计在近紫外和可见光波段, 因此光源采用卤钨灯, 2 为准直镜、3 为流动比色池、4 为汇聚镜、5 为光纤。由于微型光纤光谱仪的分辨率与入射光纤的芯径成反比, 在采用小芯径光纤提高微型光谱仪分辨率的同时, 不但入射光能量减小, 同时也为光耦合增加了难度。因此, 选择合适的光纤直径、提高耦合效率是样品室设计的关键。因此在光耦合时采用了汇聚镜 2、4, 这组透镜的使用使耦合进入光纤的被检测光信号大大增强。为保证测试所需的温度和结构紧凑, 恒温系统采用半导体元件帕尔特用于加热和制冷, 采用半导体温度传感器 AD590 用于温度的实时测量, 并设计了相应的电路和结构。

1.3 软件系统

软件系统由信号采集卡驱动程序、光谱信息处理及多光谱识别系统和用户软件平台组成, 采用模块化设计, 各个模

块采用组件技术实现, 每个模块由 1 个或多个组件组成。其优点在于降低了系统模块之间的耦合度, 使系统设计更加灵活, 方便各个模块独立升级。

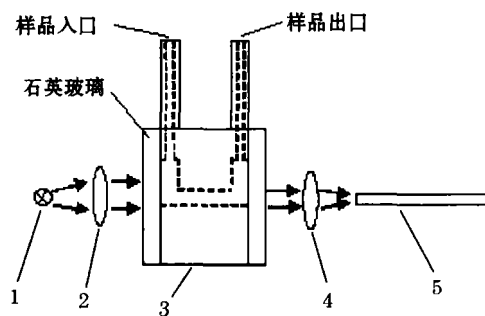


Fig 3 Schematic graph of sample room

2 临床试验

在重庆市食品药品监督管理局指定的国家医药临床实验基地: 第三军医大学大坪医院、第三军医大学西南医院完成了临床对比试验, 另外在重庆大学的校医院也进行了临床对比试验。测试方法为随机抽取当日医院的检验标本, 和其正在使用的生化分析仪进行临床对比测试^[8], 统计方法采用 t 检验, 如 $t < t_{0.05}$, $P > 0.05$, 说明两台仪器所测结果无显著性差异, 具体如下。

2.1 第三军医大学的西南医院的测试

在西南医院的试验项目为总蛋白 TP、总胆固醇 Chol 和碱性磷酸酶 ALP, 这三项是临床检验具有代表性的项目, 其中 TP 和 Chol 是进行肝功能检测、ALP 是进行血脂检测。采用 BD 真空采血管采集病人空腹静脉血 3~4 mL, 1500 g 离心 10 min 分离血清。用西南医院临床使用的 Olympus AU2700 全自动生化分析仪和该微型生化分析仪进行对比测试。

2.1.1 TP 的测定方法及试剂

TP 测定采用双缩脲法, 利用在碱性环境下铜离子与蛋白质产生紫色复合物的原理, 反应液的吸光度与样品 TP 的含量成正比。采用试剂为德国 HUMAN 公司生产的 TP 测定试剂盒。取血清或标准 20 μL 于试管, 加入双缩脲试剂 1000 μL , 混匀, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴孵育 10 min, 然后用 WBSY-120 型微型半自动生化分析仪, 在 540 nm 波长下, 以试剂空白调零, 测定吸光度。用 AU2700 测定时, 标本量为 4 μL , 试剂量为 200 μL , 其他条件相同。测试结果如图 4 所示。经计算, $t = 0.509$, $P = 0.6137$, 因此 $P > 0.05$, 结果无显著性差异。

2.1.2 Chol 测定方法及试剂

Chol 测定采用 CHOD-PAP 酶法, 首先利用胆固醇酯酶水解胆固醇酯, 随后胆固醇在胆固醇氧化酶的催化下产生胆甾烯酮及 H_2O_2 , 然后在过氧化物酶催化下 H_2O_2 使 4 氨基苯胺及苯酚氧化生成醌亚胺, 醌亚胺在 500 nm 处吸光度的变化与总胆固醇的含量呈正比。采用试剂为德国 HUMAN 生产的胆固醇测定试剂盒。取 10 μL 血清于试管, 加入试剂

1 000 μL , 混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min, 在 500 nm 波长下, 用试剂空白调零, 测定反应管的吸光度。用 AU2700 测定时, 样品加样量为 2 μL , 试剂用量为 200 μL , 其他条件相同。测试结果如图 5 所示。经计算, $t = 0.05495$, $P = 0.95647$, 因此 $P > 0.05$, 结果无显著性差异。(图中 TC 即为 Total cholesterol)。

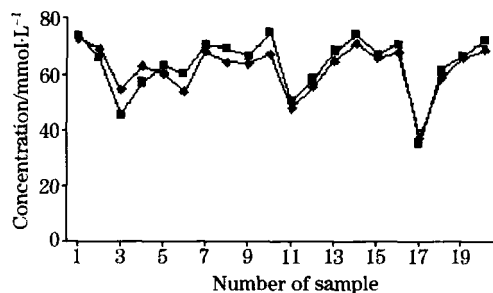


Fig 4 The comparison of TP measuring result
▲: Microbiochemical analyzer; ■: AU2700

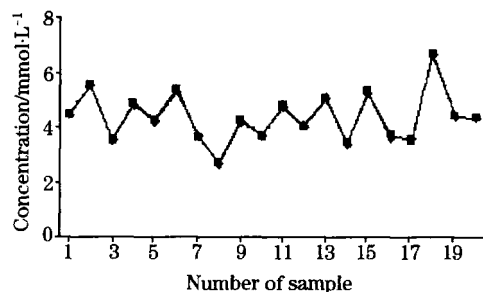


Fig 5 The comparison of TC measuring result
▲: Microbiochemical analyzer; ■: AU2700

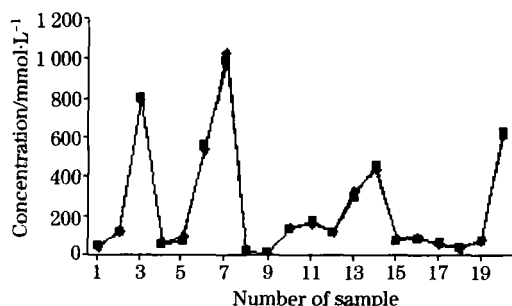


Fig 6 The comparison of ALP measuring result
▲: Microbiochemical analyzer; ■: AU2700

2.1.3 ALP 测定方法及试剂

ALP 测定采用对硝基酚磷酸酯水解速率法, 在 Mg^{2+} , Zn^{2+} 及 2-氨基-2-甲基-1-丙醇存在的碱性条件下, 通过测定对硝基酚磷酸酯转换成对硝基酚的速率来测定 ALP 的活性, 对硝基酚在 410 nm 波长下产生的吸光度变化 $\Delta A/\text{min}$ 与 ALP 活性成正比。采用试剂为日本 Olympus 公司产品。取 1 mL 试剂于试管内, 加入标本 10 μL , 混匀后, 用 WBSY-120 型微型半自动生化分析仪在 405 nm 波长下监测吸光度的变

化率, 延迟时间: 1 min, 测定时间为 1 min, 因数为 5386。采用 AU2700 测定时, 标本量为 2 μL , 试剂量为 200 μL 。测试结果如图 6 所示。经计算, $t = 0.01928$, $P = 0.98472$, 因此 $P > 0.05$, 结果无显著性差异。

2.2 重庆大学校医院的测试

选择了肌酐 (Cr)、血清葡萄糖 (Glu)、总蛋白 (TP) 和总胆固醇 (TC) 四个临床试验项目, 将当天病人样本作为试验样品, 与美国雷杜公司半自动生化分析仪 RT-1904C 进行对比测试。结果如图 7, 图 8, 图 9 和图 10 所示。

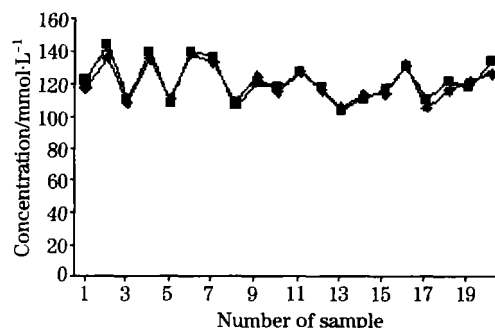


Fig 7 The comparison of Cr measuring result
▲: Microbiochemical analyzer; ■: RT-1904C

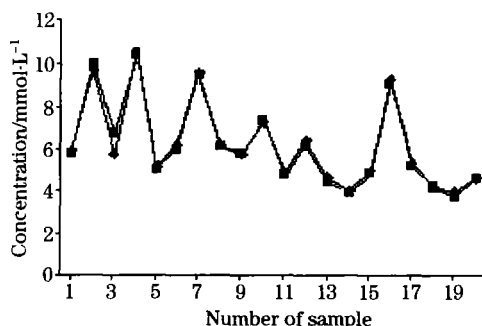


Fig 8 The comparison of GLU measuring result
▲: Microbiochemical analyzer; ■: RT-1904C

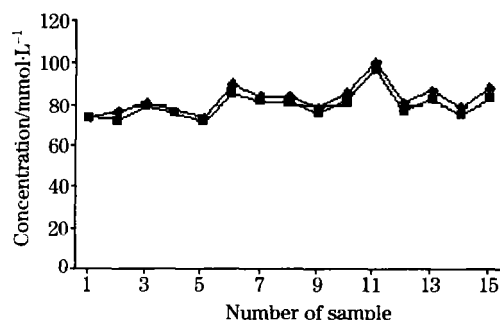


Fig 9 The comparison of TP measuring result
▲: Microbiochemical analyzer; ■: RT-1904C

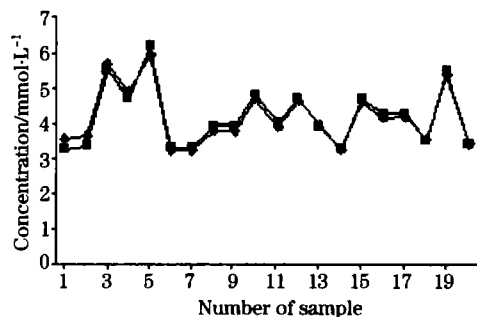


Fig 10 The comparison of TC measuring result

▲: Microbiochemical analyzer; ■: RT-1904C

2 3 第三军医大学大坪医院的测试

临床试验项目包括总胆红素 (total bilirubin, TB)、血清葡萄糖 (Glu)、尿酸 (UA)、总胆固醇 (total chol, TC) 四项。TB、ALB 是进行肝功能检测, UA 是肾功能检测, TC 是进行血脂检测。用大坪医院的 Beckman 公司 LX-20 全自动生化分析仪进行对比测试。

限于篇幅, 直接给出测试结果。

TB 对比试验: $t = 0.5121$, $t_{0.05} = 2.024$, $n' = 38$, $P > 0.05$, 结果无显著性差异;

UA 对比试验: $t = 0.1310$, $t_{0.05} = 2.024$, $n' = 38$, $P > 0.05$, 结果无显著性差异;

TC 对比试验: $t = 0.3298$, $t_{0.05} = 2.024$, $n' = 38$, $P > 0.05$, 结果无显著性差异;

GLU 对比试验: $t = 1.2813$, $t_{0.05} = 2.024$, $n' = 38$, $P > 0.05$, 结果无显著性差异。

3 结 论

通过与西南医院、大坪医院的全自动生化分析仪以及重庆大学校医院的半自动生化分析仪的对比试验, 试验结果证明我们研制的基于连续光谱分析的微型生化分析仪已达到临床应用水平, 向产业化方向迈出了坚实的一步。上述 3 家医院针对该次临床试验出具了相应的临床试验报告。

参 考 文 献

- [1] HU Song, WEN Zhiyu, CHEN Weimin, et al (胡 松, 温志渝, 陈伟民, 等). Piezoelectrics & Acousto-optics (压电与声), 2000, 22(6): 149.
- [2] HU Song (胡 松). Research on the Fiber Minispectrometer (微型光纤光谱仪的研究). Thesis of Doctor of Chongqing University (重庆大学博士学位论文), 2000.
- [3] WEN Zhiyu, CHEN Gang, WEN Zhongquan, et al (温志渝, 陈 刚, 温中泉, 等). Acta Optica Sinica (光学学报), 2003, 23(6): 740.
- [4] Wen Zhiyu, Chen Gang, Huang Shanglian. Processing of SPIE Micromachining and Microfabrication, 25-31, January, 2003, San Jose, California, USA, 4983-18.
- [5] HU Song, CHEN Weimin, WEN Zhiyu, et al (胡 松, 陈伟民, 温志渝, 等). Acta Optica Sinica (光学学报), 2002, 22(2): 190.
- [6] CHEN Gang, WEN Zhiyu, WEN Zhongquan, et al (陈 刚, 温志渝, 温中泉, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2005, 25(3): 439.
- [7] CHEN Gang (陈 刚). Study on a Hybrid Integrated Micro Fiber Spectrometer (混合集成微型光纤光谱仪的研究). Thesis of Doctor of Chongqing University (重庆大学博士学位论文), 2002.
- [8] LIU Zhengying (刘正英). Clinical Biochemistry (临床生物化学). Beijing: People's Medical Press (北京: 人民卫生出版社), 1999.

Microbiochemical Analyzer Based on Continuous Spectrum and Its Test for Clinic Use

HU Song, WEN Zhiyu, LIANG Yurqian, DU Xiaqing, ZHANG Bo

Chongqing University, College of Optoelectronic Engineering, Chongqing 400044, China

Abstract A microbiochemical analyzer based on continuous spectrum and its test for clinic use are introduced. The principle of splitting behind was adopted to design the micro biochemical analyzer, which has the characteristics of little disorder light, real time collection of continuous spectrum signal (340-770 nm), small volume, light weight, small wastage of sample and reagent

and rapidness and direct view of check. It has wide application in the emergency treatment, middling and small hospitals, rescue of battleground, and medicinal research. Representative items for clinic test were selected, such as uric acid, total cholesterol and albumin in our experiments. Comparative test and analysis of the daily check-up samples were made respectively by our microbiochemical analyzer and by the standard one of the hospital(Olympus AU2700, RT-1904C, Beckman LX 20). The test results show that our micro biochemical analyzer can meet the requirement of clinic use.

Keywords Analytical instrument; Microsystem; Biochemical analysis; Absorption spectrum

(Received Oct. 16, 2005; accepted Feb. 16, 2006)