

· 技术与方法 ·

# 微型光谱仪检测血清二氧化碳的研究\*

傅灵媛, 吴杰红, 张志伦, 蒲晓允<sup>△</sup>

(第三军医大学新桥医院检验科, 重庆 400037)

**摘要:**目的 研究一种基于微型光谱仪和干化学试剂技术快速检测血清二氧化碳浓度的方法。方法 根据酶法制备干粉二氧化碳试剂, 研究其在微型光谱仪上的检测方法, 并对试剂及仪器的性能进行评价, 进行统计学分析。结果 制备的干试剂结构疏松、溶解性好, 90 d 内反应稳定。用 546 nm 波长检测, 其线性范围为 15~40 mmol/L, 批内变异系数(CV) < 4%, 批间 CV < 6%, 回收率为 98.8%~105.8%。当血清内胆红素(TB) < 290.40 μmol/L, 三酰甘油(TG) < 11.20 mmol/L, 无明显干扰, 与全自动生化分析仪酶法结果的相关性良好( $r=0.956$ )。结论 采用微型光谱仪干试剂法测定血清二氧化碳, 是一种可行的检测方法, 可用于血清二氧化碳的快速批量测定。

**关键词:**二氧化碳; 微型光谱仪; 干试剂

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.33.028

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)33-3391-02

## Experimental study on the detection of carbon dioxide based on dry chemistry method with micro spectrometer<sup>\*</sup>

Fu Lingyuan, Wu Jiehong, Zhang Zhilun, Pu Xiaoyun<sup>△</sup>

(Department of Laboratory Medicine, Xinqiao Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

**Abstract:** **Objective** To establish a new method for rapid detection of carbon dioxide based on micro spectrometer and dry reagent. **Methods** The dry powder carbon dioxide reagent was prepared through enzymatic method, its detection method in the micro spectrometer was explored and the performance of both the reagent and the equipment was evaluated with statistical analysis. **Results** The prepared dry reagents were of rarefaction structures and with good reaction solubility for 90 days after being lyophilized. The linear range of carbon dioxide was 15—40 mmol/L, detecting at 546 nm wave length. The intra-assay and inter-assay coefficient variations (CV) were respectively less than 4 % and less than 6 %, with the recovery rate ranging from 98.8 % to 105.8 %. No obvious interference was observed in the determination results when the serum TB was less than 290.40 μmol/L and the TG was less than 11.20 mmol/L. The detection results by this method correlated well with that from the automatic biochemistry analyzer enzymatic method ( $r=0.956$ ). **Conclusion** The method is accurate and reliable in determining the serum carbon dioxide, and its process is simple and convenient to carry out. Therefore, it can be qualified as a rapid batch detection method for serum carbon dioxide.

**Key words:** carbon dioxide; micro spectrometer; dry reagent

血清中二氧化碳的测定是临床诊治和抢救的常规及急诊检测项目, 目前临床上测定血清二氧化碳的离子选择电极 (ISE) 法由于仪器复杂、检测条件要求高, 不适用于现场检验<sup>[1]</sup>。在微型光谱的基础上, 本文开展对该仪器及其检测试剂的研究, 旨在研制适用于现场或床旁的血清二氧化碳快速检验的仪器和试剂。

### 1 材料与方法

**1.1 仪器与器材** 微型光谱分析仪由重庆大学研制, 波长 360~780 nm, 吸光度(A)线性测定值 0.000~3.000; 本微型光谱分析仪体积小(15 cm×8 cm×10 cm), 可低电压启动、恒温控制及磁力混匀。ModulyoD-230 冷冻干燥机为美国 Thermo 公司产品。AU-2700 全自动生化分析仪为日本 Olympus 公司产品。

**1.2 试剂** 参考《全国临床检验操作规程》结合酶法自行配制。试剂主要含碳酸酐酶、指示剂、添加剂。

### 1.3 方法

**1.3.1 干试剂的制备** 按比例将化学试剂和添加剂加入微型光谱仪的检测杯, 于冷冻干燥机真空抽干, 将干燥好试剂的检测杯置于已放入硅胶的密封袋内 4℃ 保存。

**1.3.2 添加剂的选择** 直接冷冻干燥液体试剂, 再加入 6 种添加剂(清蛋白、甘氨酸、木糖醇、山梨醇、右旋糖酐、聚乙二醇) 分别进行冻干, 冻干后观察试剂的外观和反应性能。将初筛选定的添加剂浓度由 10 g/L 加至 20、30、40 g/L, 冻干后加入样品稀释液, 观察效果和反应性。

**1.3.3 检测方法** 按比例稀释被测样品, 加入到干燥好试剂的检测杯进行复溶, 放入微型光谱仪的检测体系, 通过磁力搅拌混匀并对杯部加热, 在 546 nm 波长下进行检测, 10 min 后得到结果。

**1.3.4 线性范围测定** 将二氧化碳混合血清标准品用去离子水稀释, 配制各种浓度: 15、20、25、30、35、40 mmol/L, 进行线性范围的测定并绘制标准曲线。

**1.3.5 重复试验和回收试验** 取正常值标准品(26 mmol/L) 连续测 10 次, 进行批内重复性的测定; 取高、中、低 3 种浓度的二氧化碳标准品进行批间检测(每天测定 1 次, 连续测定 10 d)。然后在 4 根试管中分别加入低、中、高 3 种浓度的标准溶液, 进行回收率的测定。

**1.3.6 稳定性试验** 二氧化碳试剂冻干取出后, 分别于 1、15、30、60、90 d 进行测定, 每次重复测定 10 次。

\* 基金项目: 解放军总装备部预研基金(2007E056)。 △ 通讯作者, E-mail: puxiaoyun@mail.tmmu.com.cn。

**1.3.7 干扰性试验**<sup>[2]</sup> 用混合血清进行测定,建立对照组和加入不同浓度干扰物(胆红素和三酰甘油)的实验组。每组样品重复测定 3 次,计算其平均值,将平均值进行比较。

**1.3.8 方法学比较试验** 收集临床测定中高值、中值、低值共 60 例标本,采集后取血清用 $-20^{\circ}\text{C}$ 低温保存,然后分别用微型光谱仪和全自动生化分析仪同时进行检测,判断两种方法的一致性。

**1.4 统计学处理** 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,计数资料以百分率表示,采用 SPSS11.0 统计学软件进行配对  $t$  检验和回归分析,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 添加剂的优选** 冻干后的试剂应具有检测性能,且具备较长保存期和易携带的特性。直接冻干的试剂各孔试剂分布不均,有喷溅现象。加入清蛋白和甘氨酸后试剂产生了颜色干扰反应。加入右旋糖酐、山梨醇、木糖醇的试剂仍出现飞溅现象。加入聚乙二醇的试剂能保持固有体积,外观成型较好,为淡黄色粉末状,加入蒸馏水复溶后迅速溶解。当聚乙二醇浓度在 20 g/L 时,能保持固有形状及原液体试剂的淡黄色外观,在加入相应浓度的样品后,试剂溶解迅速,对其吸光度进行测定,反应性能趋势良好。

### 2.2 干试剂的性能测试

**2.2.1 稳定性试验** 配制后的试剂经 A 值观察,在 3 个月内起始 A 值的变化小于 5%。试剂反应性能在 3 个月内未出现明显升高或下降趋势,稳定性良好。

**2.2.2 干扰性试验**<sup>[2]</sup> 当血清内胆红素小于 290.40  $\mu\text{mol/L}$  及三酰甘油小于 11.20 mmol/L 时,未见明显干扰。

### 2.3 微型光谱仪的精密度与准确度测试

**2.3.1 检测标准品的结果** 批内、批间重复实验中微型光谱仪检测标准品浓度的结果,见表 1。

表 1 二氧化碳批内、批间重复实验结果

| 二氧化碳浓度(mmol/L) | 检测结果( $\bar{x}\pm s$ ,mmol/L) | CV(%) |
|----------------|-------------------------------|-------|
| 批内重复实验         |                               |       |
| 26             | 24.75 $\pm$ 0.88              | 3.57  |
| 批内重复实验         |                               |       |
| 10             | 9.10 $\pm$ 0.47               | 5.18  |
| 26             | 25.71 $\pm$ 1.34              | 5.21  |
| 36             | 37.34 $\pm$ 2.18              | 5.85  |

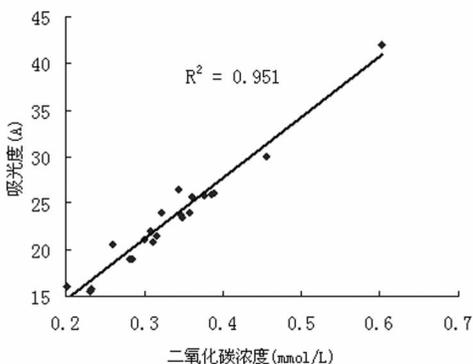


图 1 光谱仪干试剂检测的标准曲线

**2.3.2 回收率测定** 回收试验中微型光谱仪检测低、中、高浓度标本的回收率分别为 98.8%、103.6%、105.8%。

**2.4 标准曲线** 微型光谱仪检测血清二氧化碳的标准曲线,分别用浓度为 15、20、25、30、35、40 mmol/L 的二氧化碳标准液进行定标,其检测吸光度随加入浓度增加而上升的曲线,见图 1。

**2.5 方法学比较** 微型光谱仪干试剂法与全自动生化分析仪酶法的方法学比较,两种检测方法的相关性较好( $r=0.956$ ),见图 2。

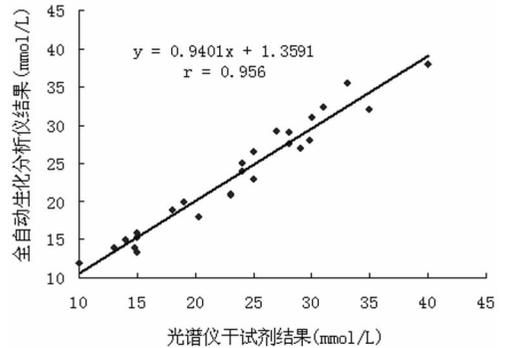


图 2 光谱仪干试剂与全自动生化分析仪的相关性

## 3 讨论

二氧化碳结合力是临床检测肾功能及酸中毒的常用指标,检出的准确性对于临床及时纠正酸碱平衡紊乱有重要意义。

临床上测定的方法主要有滴定法、电极法和酶法。滴定法成本低,但准确性和重复性欠佳,试剂不稳定,批量检测费时、费力<sup>[3]</sup>。临床现常用的方法是离子选择电极法,而该方法成本高,需要稳定的电压及常更换的电极<sup>[4]</sup>,不适用于现场快速检测。已有很多实验室逐步倾向使用酶法<sup>[5]</sup>,酶法特异性强,适用于全自动生化分析仪批量快速检测,而被拥有生化分析仪的实验室广泛采用<sup>[6]</sup>,但对于实验室以外的二氧化碳单项目的现场快速检验以及大批测定就不适用<sup>[7]</sup>。目前中国临床常用干化学分析技术测定急诊项目,如美国强生公司的 VITRO-250,体积太大,参比液要经常更换,准确性有待改善<sup>[8-9]</sup>,而且仪器和试剂较昂贵,难以达到普及状态。国内有小型的半自动生化分析仪的研制,体积小、具有一定的便携性,不足之处在于试剂不配套、针对性不强、不能做电解质等项目的测定<sup>[10]</sup>。

本实验构建的微型光谱仪干试剂测定在微型光谱分析仪基础上<sup>[11]</sup>,建立了一套以干试剂为基础的电解质快速检测装置,具有较强的实用性和便携性。经过多次试验,确定了添加剂及试剂配制方法,最终采用干试剂冻干于检测杯中进行检测,只需用稀释液对样品进行稀释,直接以检测杯作为比色杯进行透射式比色测定的检测方法<sup>[12]</sup>。作者综合了湿化学法中吸光度法简便可靠的优点和干化学法中干试剂易于保存及检测的优点,将干试剂技术应用于微型光谱仪,省去携带和添加各种液体试剂的麻烦,使测定过程更简化。整套系统在测定过程中由系统自动进行磁力混匀及孵育,于设定波长下进行检测,通过电脑微处理快速得出结果,检测时间短,满足现场快速检验需求<sup>[13]</sup>。在本实验中,试剂精密度高,批内及批间各指标重复性 CV 均在 6% 内,回收率均在 90%~110% 之间,且试剂稳定性较好。从二氧化碳的标准曲线中可看出,在 15~40 mmol/L 的区域内,反应都呈一次函数增长模型,完全可以满足临床标本检测的要求。图 2 中微型光谱仪干试剂测定与全自动生化分析仪相比较,图形显示大部分点位于直线两侧,采用一次函数进行曲线拟合,所得  $r=0.956$ , (下转第 3425 页)

~2000 年肺灌洗术并发症为 8.40% (81/964), 其中低氧血症 12 例, 二氧化碳潴留 8 例, 通气肺漏水 6 例, 低钾血症 7 例, 静脉炎 11 例, 心律失常 7 例, 术后发热 5 例; 2001~2009 年肺灌洗术并发症为 1.43% (50/3508), 其中低氧血症 8 例, 二氧化碳潴留 3 例, 通气肺漏水 3 例, 低钾血症 5 例, 静脉炎 1 例, 心律失常 4 例, 术后发热 1 例; 各组间比较差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。

### 5 WLL 在尘肺治疗的展望

WLL 自应用于尘肺治疗至今, 历经数十年的发展, 已被广大临床医护工作者所接受, 为数以万计的尘肺患者解除了痛苦。它不仅以一种全新的思路来理解和治疗尘肺病, 更为开展其他肺部疾病的治疗提供了新的途径, 其发展应用前景广阔。如何更好地应用 WLL, 进一步提高其有效性和安全性, 是一个更具挑战性的课题。相信随着科学技术的进步和医疗水平的提高, WLL 及其设备将会不断完善, 并更好地应用于临床, 为更多的尘肺患者带来福音。

### 参考文献:

- [1] Ramirez RJ, Schultz RB, Dutton RE. Pulmonary alveolar proteinosis, a new technique and rationale for treatment [J]. Arch Intern Med, 1963, 112: 419-431.
- [2] Ramirez RJ. The strange beginnings of diagnostic and therapeutic bronchoalveolar lavage [J]. P R Health Sci J, 1992, 11 (1): 27-32.
- [3] Mason GR, Abraham JL, Hoffman L, et al. Treatment of mixed-dust pneumoconiosis with whole lung lavage [J]. Am Rev Respir Dis, 1982, 126(6): 1102-1107.
- [4] 谈光新, 梁云鹏. 双肺同期大容量灌洗治疗煤工尘肺的临

床研究 [J]. 中国疗养医学, 1998, 7(4): 22-26.

- [5] 陈志远, 张志浩, 车审言. 大容量全肺灌洗术医疗护理常规及操作规程 [M]. 北京: 北京科技出版社, 2004.
- [6] 高衍新, 王瑞. 矽尘致肺纤维化机制及细胞因子在矽肺纤维化中的作用 [J]. 中国工业医学杂志, 2008, 21(1): 31-35.
- [7] Patricia M, Mark A. Apoptosis as a therapeutic target for the treatment of lung disease [J]. Curr Opin Pharmacol, 2005, 5(3): 232-237.
- [8] 张琪凤, 张卓, 毛国根, 等. 肺灌洗排尘病因治疗的资料分析和实验研究 [J]. 中国职业医学, 2000, 27(1): 4-6.
- [9] Feng NH, Hacker A, Effros RM. Solute exchange between the plasma and epithelial lining fluid of rat lungs [J]. Appl Physiol, 1992, 72(3): 1081-1089.
- [10] 张志浩, 刘贺. 大容量全肺灌洗治疗尘肺病及其他肺疾患 5 000 例次临床分析 [J]. 中国疗养医学, 2009, 18(10): 956-960.
- [11] 袁扬, 黄京慧. 大容量肺灌洗治疗煤工尘肺肺功能远期效果的观察 [J]. 中国疗养医学, 2009, 18(8): 677-679.
- [12] Hunber GL. Effect of experimental Saline Lavage on Pulmonary mechanics and morphology [J]. Am Rev Res Dis, 1971, 104(3): 337.
- [13] 胡国昌, 曾因明, 陈世超, 等. 大容量全肺灌洗对犬肺形态学的影响 [J]. 徐州医学院学报, 1995, 15(3): 231-234.
- [14] 陈志远, 车审言. 大容量全肺灌洗术的并发症 [J]. 中国疗养医学, 1997, 6(2): 44-48.

(收稿日期: 2010-08-26 修回日期: 2011-05-31)

(上接第 3392 页)

说明两种方法的相关性较好。

综上所述, 本研究使用的微型光谱分析仪, 具有体积小、耗能少、光谱宽、重复性好等优点, 整套装置体积小, 使用简便, 是一种适于急救的快速检测新方法。将干试剂技术应用于微型光谱仪, 试剂样品用量少, 检测时间短, 能够满足现场快速检验。

### 参考文献:

- [1] 张春旭, 王伟祥, 高锋. 酶法、化学法与电极法测定血清电解质的方法学对比与评估 [J]. 检验医学, 2004, 19(3): 256-257.
- [2] 罗梅, 朱晓玲, 张迎玖. 液体试剂与干粉试剂酶法测定血清总二氧化碳的实验对比 [J]. 检验医学, 2004, 19(6): 511.
- [3] 焦莉莉, 李海霞, 徐国宾, 等. 3 种血浆 TCO<sub>2</sub> 测定法分析性能与 NaHCO<sub>3</sub> 水质标准液互通性评估 [J]. 临床检验杂志, 2009, 27(3): 174-176.
- [4] 张海涛, 王玉萍, 郭晋. 酶法和离子选择电极法测定血清钾、钠的比较 [J]. 检验医学, 2007, 32(2): 216-218.
- [5] 传良敏, 黄文芳, 饶绍琴, 等. 内源性干扰物质对酶法测定钾钠氯结果的影响 [J]. 现代检验医学杂志, 2006, 21(2): 39.
- [6] 陈洁, 顾国宝, 华俊, 等. 液体单试剂酶法测定血清碳酸氢

根 [J]. 检验医学, 2006, 21(1): 52-54.

- [7] 席云, 肖刚, 冉烈. 离子选择电极间接法与酶法测定血清钾、钠的比较 [J]. 现代医学仪器与应用, 2004, 16(2): 5-6.
- [8] Suzuki H, Matsugi Y. Integrated microfluidic system for the simultaneous determination of ammonia, creatinine, and urea. Sensors and Actuators B [J]. Chemical, 2005, 108(22): 700-707.
- [9] Grabowska I, Stadnik D, Chudy M, et al. Architecture and method of fabrication PDMS system for uric acid determination. Sensors and Actuators B [J]. Chemical, 2007, 121 (20): 445-451.
- [10] Watts P, Haswell SJ. Microfluidic combinatorial chemistry [J]. Curr Opin Chem Biol, 2003, 7(3): 380-387.
- [11] 胡松, 温志渝, 梁玉前, 等. 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 [J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(9): 1769.
- [12] 陈麟凤, 刘景汉. 常用细胞冻干保护剂的特性、作用机制及应用进展 [J]. 中国输血杂志, 2006, 19(6): 500-502.
- [13] 白晓, 李强, 吴杰红, 等. 基于微型光谱仪干化学法检测电解质的实验研究 [J]. 解放军医学杂志, 2008, 33(10): 1265-1267.

(收稿日期: 2011-04-01 修回日期: 2011-05-26)