

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2019年10月31日 (31.10.2019)



(10) 国际公布号
WO 2019/206313 A1

(51) 国际专利分类号:
G01N 15/12 (2006.01) *G01N 21/47* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2019/084687

(22) 国际申请日: 2019年4月26日 (26.04.2019)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
PCT/CN2018/085197
2018年4月28日 (28.04.2018) CN

(71) 申请人: 深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司 (SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.) [CN/CN]; 中国广东省

深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路, Guangdong 518057 (CN)。

(72) 发明人: 祁欢(QI, Huan); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司, Guangdong 518057 (CN)。 叶波(YE, Bo); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司, Guangdong 518057 (CN)。 郑文波(ZHENG, Wenbo); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司, Guangdong 518057 (CN)。 胡长松(HU, Changsong); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司, Guangdong 518057 (CN)。 郁琦(YU, Qi); 中国广东省深圳市南山区

(54) Title: METHOD AND SYSTEM FOR DETERMINING PLATELET CONCENTRATION

(54) 发明名称: 测定血小板浓度的方法及系统

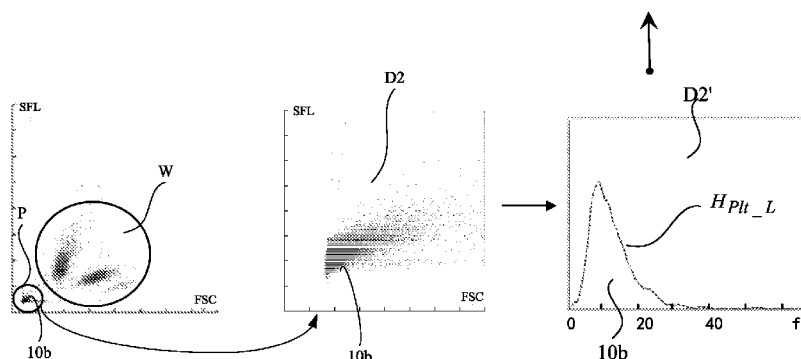


图 5

(57) Abstract: Disclosed are a method for analyzing the platelet concentration in a blood sample, a blood analysis system (100) and a storage medium. The method for determining the platelet concentration in the blood sample comprises: mixing a first part of the blood sample with a diluent to form a first suspension; mixing a second part of the blood sample with a hemolytic agent and a fluorescent dye to dissolve red blood cells and stain white blood cells to form a second suspension; measuring a direct-current impedance signal of the first suspension flowing through apertures; measuring a light scattering signal and a fluorescent signal of the second suspension flowing through an optical flow cell (20); analyzing the direct-current impedance signal of the first suspension to obtain a first platelet distribution; analyzing the light scattering signal and the fluorescent signal of the second suspension to distinguish platelets from white blood cells and obtain a second platelet distribution; and determining the platelet analysis data of the blood sample, such as the platelet concentration, based on the first platelet distribution and the second platelet distribution.

(57) 摘要: 一种分析血液样本中血小板浓度的方法、血液分析系统(100)及存储介质, 测定血液样本中血小板浓度的方法包括: 将血液样本的第一份与稀释液混合, 形成第一悬浮液; 将血液样本的第二份与溶血剂和荧光染料混合以溶解红细胞和染色白细胞, 形成第二悬浮液; 测量第一悬浮液流过小孔的直流阻抗信号; 测量第二悬浮液流过光学流动室(20)的光散射信号和荧光信号; 分析第一悬浮液的该直流阻抗信号以获取第一血小板分布; 分析第二悬浮液的光散射信号和荧光信号以区分血小板和白细胞并获取第二血小板分布; 基于第一血小板分布和第二血小板分布确定血液样本的血小板分析数据, 如血小板浓度。

WO 2019/206313 A1

高新技术产业园区科技南十二路深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司, Guangdong 518057 (CN)。

李朝阳(LI, Chaoyang); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司, Guangdong 518057 (CN)。

(74) 代理人: 深圳市赛恩倍吉知识产权代理有限公司(SHENZHEN SCIENBIZIP INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY CO., LTD.); 中国广东省深圳市龙华新区龙观东路83号荣群大厦9楼, Guangdong 518109 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

测定血小板浓度的方法及系统

技术领域

[001] 本公开涉及用于测定血液样本中血小板浓度的方法及系统。具体地，本公开涉及通过组合稀释后血液样本的阻抗测量数据和溶血后血液样本的光学测量数据确定血小板浓度。

背景技术

[002] 为了确定患者的治疗进程，在临床实践中通常需要获取准确的血小板计数。例如，如果血小板计数低于每升 20×10^9 ，则可能需要输入血小板，否则患者可能会发生潜在危及生命的出血。

[003] 大多数现有的血液分析仪通过阻抗测量法对血小板进行计数。通过测量稀释后血液样本的阻抗，可以获得细胞的体积信息，进而可以根据细胞的体积分类血小板和红细胞。虽然，在大多数情况下阻抗测量系统在测量血小板计数中提供了相对准确的结果，它仍存在一定的局限性。例如，阻抗测量方法不能区分血小板与干扰粒子，例如小红细胞 (microcytes) 和裂红细胞 (schistocytes, 也称红细胞碎片)，导致血小板计数假性增高。另一方面，大血小板和巨血小板可能会超出阻抗测量方法中用于血小板计数的预定阈值而被分类为红细胞，这会导致血小板计数假性降低。

[004] 在阻抗测量中，通常是通过对直方图中 2 至 20 飞升 (femtoliters, fL) 之间的血小板体积分布进行数学曲线拟合以便将动态范围扩展到 70 fL。然而，在某些情况下上述方法无法获得准确的血小板计数。例如，当血小板的分布不服从对数正态分布时，或者血小板分布曲线的高段没有下降时，平均血小板体积会超出正常范围，该拟合方式可能不再适用。在这些情况下，通常只有落在 2 至 20 fL 范围内的血小板被阻抗测量系统报告，并标示该检测异常。

[005] 为克服阻抗测量方法的缺点，一些高端的血液分析仪中增加了对于血小板的光学测量通道。虽然光学测量降低了上述干扰对血小板测量的影响，但是用于血小板检测的附加光学检测通道显著地增加了血液分析仪器的复杂性，并且提高了仪器制造和维护服务的成本。

[006] 因此，需要一种简单、成本较低的且可靠的检测方法及仪器系统，用于在存在干扰物质的情况下准确地确定血液样本中血小板浓度。

发明内容

[007] 一方面，本公开涉及确定血液样本中血小板浓度的方法。该方法包括：将该血液样本的第一份试样与稀释液混合，形成第一悬浮液；将该血液样本的第二份试样与溶血剂和荧光染料混合以溶解红细胞和染色白细胞，形成第二悬浮液；测量该第一悬浮液流过小孔的直流阻抗信号；测量该第二悬浮液流过光学流动室的光散射信号和荧光信号；分析该第一悬浮液的该直流阻抗信号以获取第一血小板分布；分析该第二悬

浮液的该光散射信号和该荧光信号以区分血小板和白细胞并获取第二血小板分布；以及基于该第一血小板分布和该第二血小板分布确定该血液样本的血小板浓度。进一步地，该方法还包括基于该第二悬浮液的该光散射信号和该荧光信号将该血液样本中的白细胞区分为白细胞的亚群，包括区分单核细胞、淋巴细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞。

[008] 另一方面，本公开涉及用于确定血液样本中血小板浓度的血液分析系统。该血液分析系统包括：第一模块，该第一模块包括第一混合室和直流阻抗检测器，该第一混合室用于将该血液样本的第一份试样与稀释液混合以形成第一悬浮液，该直流阻抗检测器被装配于流通过径的小孔，该流通过径与该第一混合室相连接，该直流阻抗检测器用于检测该第一悬浮液通过该小孔的直流阻抗信号。第二模块，包括第二混合室、光源及至少一光学检测器，该第二混合室用于将该血液样本的第二份试样与溶血剂及荧光染料混合、溶解红细胞并染色白细胞以形成第二悬浮液，该光源用于将光束对准与该第二混合室相连接的光学流动室的检测孔，该至少一光学检测器被装配于该光学流动室，用于检测通过该光学流动室检测孔的该第二悬浮液的光散射信号和荧光信号；以及数据处理模块，与该第一模块的该直流阻抗检测器和该第二模块中的该至少一光学检测器分别可操作地连接，该数据处理模块包括处理器和编程有计算机应用程序的非暂时性计算机可读存储介质，当该计算机应用程序被该处理器执行时，使该处理器基于该第一悬浮液的该直流阻抗信号生成第一血小板分布，基于该第二悬浮液的该光散射信号和该荧光信号区分血小板与白细胞、生成第二血小板分布，基于该第一血小板分布和该第二血小板分布确定该血液样本的血小板浓度。进一步地，该数据处理模块还基于该第二悬浮液的该光散射信号和该荧光信号将该血液样本中的白细胞区分为白细胞的亚群，包括区分单核细胞、淋巴细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞。

[009] 另一方面，本公开涉及确定血液样本中血小板浓度的方法。该方法包括：将该血液样本的第一份试样与稀释液混合，形成第一悬浮液；将该血液样本的第二份试样与溶血剂混合以溶解红细胞，形成第二悬浮液；测量该第一悬浮液流过小孔的直流阻抗信号；测量该第二悬浮液流过光学流动室的前向光散射信号与侧向光散射信号或中角度光散射信号；分析该第一悬浮液的该直流阻抗信号以获取第一血小板分布；分析该第二悬浮液的该前向光散射信号与该侧向光散射信号或该中角度光散射信号以区分血小板和白细胞并获取第二血小板分布；以及基于该第一血小板分布和该第二血小板分布确定该血液样本的血小板浓度。进一步地，该方法还包括基于该第二悬浮液的该前向光散射信号与该侧向光散射信号或该中角度光散射信号将该血液样本中的白细胞区分为白细胞的亚群，包括区分单核细胞、淋巴细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞。

[010] 又一方面，本公开涉及用于确定血液样本中血小板浓度的血液分析系统。该血液分析系统包括：第一模块，该第一模块包括第一混合室和直流阻抗检测器，该第一混合室用于将该血液样本的第一份试样与稀释液混合以形成第一悬浮液，该直流阻抗检测器被装配于流通过径的小孔，该流通过径与该第一混合室相连接，该直流阻抗检测器用于检测该第一悬浮液通过该小孔的直流阻抗信号。第二模块，包括第二混合室、光源及至少一光学检测器，该第二混合室用于将该血液样本的第二份试样与溶血剂及荧光染料混合、溶解红细胞并染色白细胞以形成第二悬浮液，该光源用于将光束对准与该第二混合室相连接的光学流动室的检测孔，该至少一光学检测器被装配于该光学流动室用于检测通过该光学流动室的该检测孔的该第二悬浮液的前向光散射信号和侧向光散射信号或中角度光散射信号；以及数据处理模块，与该第一模块的该直流阻

抗检测器和该第二模块中的该至少一光学检测器分别可操作地连接，该数据处理模块包括处理器和编程有计算机应用程序的非暂时性计算机可读存储介质，当该计算机应用程序被该处理器执行时，使该处理器基于该第一悬浮液的该直流阻抗信号生成第一血小板分布，基于该第二悬浮液的该前向光散射信号和该侧向光散射信号或该中角度光散射信号区分血小板与白细胞、生成第二血小板分布，基于该第一血小板分布和该第二血小板分布确定该血液样本的血小板浓度。进一步地，该数据处理模块还基于该第二悬浮液的该光散射信号和该荧光信号将该血液样本中的白细胞区分为白细胞的亚群，包括区分单核细胞、淋巴细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞。

[011] 下面将结合附图及示例性的实施方式对本公开进行描述，本公开的优点将体现地更加明显。

附图说明

[012] 图 1 示出了来自血液样本的第一悬浮液的血小板 DC 阻抗直方图 H_{Plt-D} 。

[013] 图 2 示出了来自图 1 中的血液样本的第二悬浮液的荧光-前向散射光 (SFL-FSC) 散点图。

[014] 图 3A-3C 示出了本公开的一实施方式中通过血液样本的第二悬浮液获取衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 的过程。其中，图 3A 为该第二悬浮液的 SFL-FSC 散点图，图 3B 为图 3A 的 SFL-FSC 散点图中血小板区域的放大视图，图 3C 为该第二悬浮液的衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 。

[015] 图 4 示出了一含有红细胞碎片的血液样本的第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 与第二悬浮液的衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 的叠加图。

[016] 图 5 示出了本公开图 4 所示的实施方式中基于由血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 和衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 生成融合血小板直方图 H_{Plt-LD} 确定血小板浓度的过程。

[017] 图 6A 和图 6B 示出了在一实施方式中确定一血液样本中血小板浓度过程中的该血液样本的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 和衍生血小板直方图 H_{Plt-L} 。

[018] 图 7 示出了一含有大血小板的血液样本的第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 。

[019] 图 8 示出了与图 7 所采用的血液样本的第二悬浮液的荧光-前向光散射 (SFL-FSC) 散点图的血小板区域中一指定区域。

[020] 图 9A-9C 示出了本公开一实施方式中用衍生分隔阈值 T_d 确定血液样本中血小板浓度的过程。

[021] 图 10A-10C 进一步示出了用衍生分隔阈值 T_d 确定血液样本中血小板浓度的过程。

[022] 图 11A 和图 11B 分别示出了本公开的又一实施方式中一正常血液样本和一含有大血小板的异常血液样本第二悬浮液的前向光散射-侧向光散射 (FSC-SSC) 散点图。

[023] 图 12 示出了本公开一实施方式中用于说明区分白细胞亚群的血液样本第二悬浮液的 SFL、SSC 和 FSC 三维散点图。

[024] 图 13 示出了本公开一实施方式中用于说明区分未成熟细胞的血液样本第二悬浮液的 FSC-SSC-SFL 三维散点图。

[025] 图 14 示出了本公开一实施方式中用于说明区分白细胞亚群的血液样本第二悬浮液的 FSC-SSC 散点图。

[026] 图 15 是本公开的血液分析系统的简化框图。

[027] 图 16 示出了实施例 1 中所述的通过常规 DC 阻抗检测方法所获取的这些血液样本的血小板浓度与通过流式细胞仪参考方法获取的这些血液样本的血小板浓度的相关性。

[028] 图 17 示出了通过实施例 1 中所述的本公开的一实施方式的方法所获取的血液样本的血小板浓度与通过流式细胞仪参考方法获取的血液样本的血小板浓度的相关性。

[029] 图 18 示出了通过实施例 2 中所述的本公开的又一实施方式的方法所获取的血液样本的血小板浓度与通过流式细胞仪参考方法获取的血液样本的血小板浓度的相关性。

[030] 图 19 示出了通过实施例 3 中所述的本公开的另一实施方式的方法所获取的血液样本的血小板浓度与通过流式细胞仪参考方法获取的血液样本的血小板浓度的相关性。

[031] 图 20 示出了通过实施例 4 中所述的本公开的另一实施方式的方法所获取的血液样本的血小板浓度与通过流式细胞仪参考方法获取的血液样本的血小板浓度的相关性。

[032] 图 21 示出了通过实施例 5 中所述的本公开的又一实施方式的方法所获取的血液样本的血小板浓度与通过流式细胞仪参考方法获取的血液样本的血小板浓度的相关性。

[033] 图 22 示出了本公开一实施方式中基于由血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 和衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 生成融合血小板直方图 H_{Plt-LD} 确定血小板浓度的过程。

[034] 图 23 示出了本公开一实施方式中第二悬浮液获取的 SFL-SSC 散点图对应的血小板分布区域图。

[035] 图 24 示出了本公开一实施方式中第二悬浮液获取的 FSC-SSC 散点图的血小板区域中指定区域 P_G 出现事件数示意图。

[036] 图 25A-25C 进一步示出了用衍生分隔阈值 T_d 确定血液样本中血小板浓度的过程。

[037] 图 26 示出了本公开实施例 6 中用于说明识别有核红细胞的血液样本第二悬浮液的 FSC-SFL 散点图。

[038] 需要指出的是，在附图中相同的数字或符号表示相同的部件。

具体实施方式

[039] 本公开涉及用于确定血液样本中血小板浓度的方法及血液分析系统。下面将参考附图对本公开的实施例进行更全面的描述。各实施方式可以以多种不同的形式实施，并不应被解释为仅限于本文中所阐述的实施例。

[040] 在一些实施方式中，本公开提供了通过组合稀释后血液样本的阻抗测量数据和溶血后血液样本的光学测量数据以确定血小板浓度的方法。在此，血小板浓度可以被认为是血液学中所称的血小板计数，并被报告为每升血液中的血小板数量。

[041] 在一实施方式中，该方法包括：将一血液样本的第一份试样与稀释液混合以形成第一悬浮液；将该血液样本的第二份试样与溶血剂及荧光染料混合以裂解红细胞并染色白细胞从而形成第二悬浮液；测量该第

一悬浮液通过小孔 (aperture) 时直流 (direct current, DC) 阻抗信号; 测量该第二悬浮液通过光学流动室的光散射和荧光信号; 分析该第一悬浮液的 DC 阻抗信号, 获取第一血小板分布; 分析该第二悬浮液的光散射和荧光信号以区分血小板和白细胞, 获取第二血小板分布; 基于该第一血小板分布和该第二血小板分布确定该血液样本的血小板浓度。

[042] 该第一悬浮液为被稀释的血液样本。血液稀释液通常被应用于血液分析仪, 用于稀释血液样本以测量红细胞和血小板。稀释液通常包括一种或多种盐, 例如碱金属盐, 并被调节为等渗的 (isotonic) 以维持红细胞体积。可以采用商业血液稀释液稀释血液样本的第一份试样以形成第一悬浮液, 例如, 采用由深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司 (深圳, 中国) 生产的 M-68DS 稀释液、M-53D 稀释液等。

[043] 该第一悬浮液的 DC 阻抗信号可以通过装配有 DC 阻抗检测器和非聚焦流动孔或聚焦流动孔的流动路径进行测量。当悬浮在导电溶液中的粒子或血液细胞通过小孔时, 可以基于阻抗变化测量电信号。该阻抗信号的脉冲形状、高度和宽度与粒子的尺寸或体积直接相关, 并可以被转换为主要粒子的体积。当具有不同尺寸的两种或多种粒子被测量时, 由阻抗测量获得的频率直方图可以反映这些粒子的尺寸分布。通过配置有 DC 阻抗测量设备的血液分析仪对血细胞进行技术的检测方法是已知的, 在美国专利 U.S. 2,656,508 及 U.S. 3,810,011 中均有所描述, 其全部公开内容通过引证结合于此。

[044] 依照本文所公开的方法, 在分析来自第一悬浮液的 DC 阻抗信号中, 可以生成该稀释后的血液样本中血小板和红细胞的频率直方图。如图 1 所示, 第一血小板分布 D1 为来自第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{PH-D} , 表示该第一悬浮液中血小板 10a 的尺寸分布。在该直方图中, 血小板 10a 的体积 Vol_p 以飞升 (fL) 表示。从图 1 中可以看出, 在直方图中红细胞 20 的一部分与血小板 10a 紧密相邻。

[045] 该第二悬浮液为溶血后的血液样本。血液样本中的红细胞可以被溶血剂溶解, 溶血剂可以是阳离子、非离子、阴离子、两亲性表面活性剂中的任意一种或几种的组合。本公开中用于溶解第二份试样中红细胞的溶血剂可以是任意一种用于血液分析仪白细胞分类的已知的溶解试剂。用于血液分析仪白细胞分类的溶解试剂通常是含有一种或多种溶血剂的水溶液, 其中可以包括阳离子、非离子、阴离子、两亲性表面活性剂、或其组合。在一些实施方式中, 所述溶解试剂可以包括用于溶解红细胞的一种或多种溶解剂及用于染色有核血细胞的荧光染料, 从而通过测量光散射和荧光将例如白细胞的有核血细胞与其他类型的细胞进行分类。例如, 可以采用美国专利 U.S. 8,367,358 所描述的溶解试剂配方, 其全部公开内容通过引证结合于此。在美国专利 U.S. 8,367,358 中所披露的溶解试剂包括一种阳离子花菁化合物 (一种荧光染料)、一种阳离子表面活性剂、一种非离子表面活性剂和一种阴离子化合物, 该溶解试剂可以用于溶解红细胞和使用荧光和光散射测量将白细胞分类为其亚群。其他现有的荧光染料也可以被用在该溶解试剂中。例如, 美国专利 U.S. 8,273,329 中所描述的荧光染料, 其全部公开内容通过引证结合于此。此外, 在一些实施方式中, 荧光染料可以包含在独立的染色溶液中, 其可以与不含有荧光染料的溶解试剂一起使用。所述染色溶液可以在溶血剂之前、之后或同时加入血液样本以染色有核血细胞。

[046] 该第二悬浮液的光散射信号和荧光信号可以通过设置在光学流动室的一个或多个光学检测器进行测量。在本文中, 光学流动室指适于检测光散射信号和荧光信号的聚焦液流的流通池 (focused-flow flow cell), 例如现有的流式细胞仪和血液分析仪中所使用的光学流动室。当粒子, 例如一血细胞, 通过光学流动室的检

测孔 (orifice) 时, 来自光源的被导向该检测孔的入射光束被该粒子向各方向散射。可以在相对于该入射光束的各角度通过光检测器检测被散射的光或光散射信号。由于不同的血细胞群体具有不同的光散射特性, 因此光散射信号可以用于区分不同的细胞群体。在入射光束附近所检测的光散射信号通常被称为前向光散射信号或小角度光散射信号。在一些实施方式中, 前向光散射信号可以从与入射光束约 1° 至约 10° 的角度上进行测量。在其他一些实施方式中, 前向光散射信号可以从与入射光束约 2° 至约 6° 的角度上进行检测。在与入射光束呈约 90° 的方向所检测的光散射信号通常被称为侧向光散射信号, 且来自被荧光染料染色的血细胞所发出的荧光信号一般也在与入射光束呈约 90° 的方向上检测。在一些实施方式中, 该侧向光散射信号是从与入射光束呈约 65° 至约 115° 的角度测量。

[047] 可以使用一个或多个光学检测器测量来自该第二悬浮液的前向光散射、侧向光散射信号和荧光信号。基于本公开的目的, 可以使用多种已知的光学检测硬件的设计。

[048] 在此描述基于所获取的来自该第二悬浮液的光散射信号和荧光信号区分第二悬浮液中的血小板与白细胞的方法。如图 2 所示, 在由血液样本的第二悬浮液所得到的荧光 (SFL) 与前向光散射 (FSC) 的散点图中, 血小板区域 P (本文中的血小板区域是指可能含有血小板的区域, 不排除其他粒子一定程度与血小板粒子群重叠) 与白细胞区域 W 可以明显地被区分, 其中血小板区域对应于第二悬浮液中的血小板 10b 在散点图中的位置, 白细胞区域对应于第二悬浮液中的白细胞 30 在散点图中的位置。可选地, 也可以从第二悬浮液的荧光与侧向光散射 (SSC) 的散点图中区分血小板区域与白细胞区域。

[049] 图 3A 至图 5 进一步示出了本发明所提供的一些实施方式中确定血液样本中血小板浓度的方法。如图 3A 所示, 将血小板区域 P 从白细胞区域 W 区分出来。如图 3B 所示的 SFL vs. FSC 散点图中, 显示了放大的血小板区域 P 中血小板 10b 的二维分布。该血小板 10b 的二维分布是从该第二悬浮液的血小板光散射和荧光信号所获取的第二血小板分布 D2 的一种形式。

[050] 在下文中所描述的一些实施方式中, 通过利用血小板区域 P 中血小板 10b 的光散射信号, 可以将图 3B 中所示的第二血小板分布 D2 进一步转换为衍生血小板体积直方图 H_{Pl-L} 。该衍生血小板体积直方图 H_{Pl-L} 是所述第二血小板分布的另一形式, 如图 3C 中示出的 D2', 其是该第二悬浮液中血小板的一维分布。

[051] 该第二悬浮液中血小板的衍生血小板体积可以通过血小板区域 P 中血小板 10b 的光散射信号的函数计算。在一实施例中, 血小板区域 P 的每一血小板的衍生血小板体积 Vol_{p2} 可以使用方程式(1)计算:

$$Vol_{p2} = \alpha * FSC \quad \text{方程式(1)}$$

其中, FSC 为该血小板区域的一单独事件 (individual event) 的前向光散射信号, α 为一常数。

[052] 可选地, 该血小板区域 P 的每一血小板的衍生血小板体积也可以采用方程式(2)计算:

$$Vol_{p2a} = \beta * \exp(\gamma * FSC) \quad \text{方程式(2)}$$

其中, FSC 为该血小板区域的一单独事件的前向光散射信号, β 和 γ 为常数。

[053] 进一步地, 也可以依据 Mie 散射理论利用该第二悬浮液的前向光散射和侧向光散射信号计算该血小板区域 P 的每一血小板的衍生血小板体积。而且, 基于血小板 DC 直方图中的血小板体积与相应的从第二悬浮液获取的光散射信号之间具有尺寸相关性, 当采用方程式(1)或方程式(2)或依据 Mie 散射理论的方法进行

计算时, 该第二悬浮液的血小板的衍生血小板体积与血小板 DC 直方图中的血小板体积是相关的。因此, 在图 3C 所示的衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 中的血小板尺寸范围与图 1 所示的血小板 DC 直方图中的血小板尺寸范围相同。在本文中, 采用方程式(1)或方程式(2)或依据 Mie 散射理论所得到的衍生血小板体积和衍生血小板体积直方图均可以被称为衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 。

[054] 图 4 示意性地将上述方法所获得的两种直方图进行重叠。如图 4 所示, 将来自血液样本的第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 叠加于来自该血液样本的第二悬浮液的衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} , 其中该衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 是采用方程式(1)得到的衍生血小板体积 Vol_p 所生成的。图 4 所示的实施例中所采用的该血液样本为通过手工参考方法所确定的含有红细胞碎片的异常血样样本。如图 4 所示, 除了在血小板群体的高段 (high end), 即约 20 fL 及其以上的区域, 因为红细胞碎片的干扰导致血小板 DC 直方图 (H_{Plt-D}) 抬升之外, 两个直方图基本上相互重叠。可以理解地, 在该第二悬浮液中的红细胞, 包括小红细胞和红细胞碎片等, 被溶解。因此, 在从该第二悬浮液获取的衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 中, 血小板群体分布的高段仅反映血小板 10b 的信息, 而不受到红细胞如小红细胞和红细胞碎片等干扰物质的影响。此外, 对于含有大血小板 (large platelets) 的血液样本, 从该第二悬浮液获取的衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 反映包括大血小板的血小板 10b 的分布, 并不会像从该第一悬浮液获取的血小板 DC 直方图可能发生血小板与红细胞的重叠。相似地, 这一特点也适用于含有巨大血小板 (giant platelets) 的血液样本。

[055] 在一些实施方式中, 在获取衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 之后, 该方法生成一融合血小板直方图 H_{Plt-LD} , 该融合血小板直方图 H_{Plt-LD} 是第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 与第二悬浮液的衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 的函数: $H_{Plt-LD} = f(H_{Plt-L}, H_{Plt-D})$ 。该融合血小板直方图 H_{Plt-LD} 并入了来自第一悬浮液和第二悬浮液的血小板检测的信息。

[056] 在一示范性实施方式中, 该融合血小板直方图 H_{Plt-LD} 是采用方程式(3)生成的:

$$H_{Plt-LD}(i) = k_{i1} * H_{Plt-L}(i) + k_{i2} * H_{Plt-D}(i) \quad (i = 1, 2, \dots, n) \quad \text{方程式(3)}$$

其中, $H_{Plt-LD}(i)$ 是该融合血小板直方图中的事件(i); $H_{Plt-L}(i)$ 是第二悬浮液的衍生血小板体积直方图中的事件(i); $H_{Plt-D}(i)$ 是第一悬浮液的血小板 DC 直方图中的事件(i); 及 k_{i1} 和 k_{i2} 是系数。

[057] 在一些实施方式中, 方程式(3)中的 k_{i1} 和 k_{i2} 可以是常数。例如, 在一示范性实施例中, k_{i1} 和 k_{i2} 依照下述判据设定:

当 $Vol_p(i) > 20$ fL 时, $k_{i1} = 1, k_{i2} = 0$; 及

当 $Vol_p(i) \leq 20$ fL 时, $k_{i1} = 0, k_{i2} = 1$ 。

[058] 图 5 进一步示意了采用上述方法及生成融合血小板直方图 H_{Plt-LD} 的判据检测图 4 中的异常血样样本的过程。在图 5 所示的融合血小板直方图 H_{Plt-LD} 中, 血小板的尺寸范围与图 1 所示的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 及图 3C 所示的衍生血小板直方图 H_{Plt-L} 相同。如图 5 所示, 发生在图 4 实施例中由于血液样本中红细胞碎片的干扰而产生的血小板群体的曲线在高段的升高在该融合血小板直方图 H_{Plt-LD} 中已被校正。然后, 基于融合血小板直方图 H_{Plt-LD} 中曲线下方的面积可以确定该血液样本中的血小板浓度。

[059] 可选地, 方程式(3)中的 k_{i1} 和 k_{i2} 可以是变量, 基于第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 的血小板谷

峰比 $R_{v/p}$ (valley/peak ratio) 确定。在一替代实施方式中, k_{i1} 和 k_{i2} 可以基于方程式(4)和方程式(5)确定:

$$k_{i1} = 1 - k_{i2} \quad \text{方程式(4)}$$

$$k_{i2} = K_{\text{Coef}} * R_{v/p} + e \quad \text{方程式(5)}$$

其中, K_{Coef} 是小于零的常数; e 为大于零的常数; 如果依照方程式(4)所得的 $k_{i1} < 0$, 则设定 $k_{i1} = 0$, 如果依照方程式(5)所得的 $k_{i2} < 0$, 则设定 $k_{i2} = 0$, 然后分别代入方程式(3)得到融合血小板直方图 H_{Plt-LD} 。

[060] 可以理解的是, 该融合血小板直方图 H_{Plt-LD} 可以作为第三血小板分布, 该第三血小板分布是利用来自第一悬浮液的第一血小板分布和来自第二悬浮液的第二血小板分布, 即衍生血小板体积直方图所得到的。通过该第三血小板分布可以得到血小板浓度。

[061] 在又一示范性实施方式中, 融合血小板直方图 $H_{Plt-LDa}$ 可以是来自第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 和来自第二悬浮液的衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 依照由方程式(6)和方程式(7)所设定的判据确定的:

$$\text{当 } Vol_p(i) > 15 \text{ fL 时, } H_{Plt-LDa}(i) = \min(H_{Plt-L}(i), H_{Plt-D}(i)) \quad (i = 1, 2, \dots, n) \quad \text{方程式(6)}$$

$$\text{当 } Vol_p(i) \leq 15 \text{ fL 时, } H_{Plt-LDa}(i) = H_{Plt-D}(i) \quad (i = 1, 2, \dots, n) \quad \text{方程式(7)}$$

其中, $H_{Plt-LDa}(i)$ 是该融合血小板直方图中的事件(i); $H_{Plt-L}(i)$ 是第二悬浮液的衍生血小板体积直方图中的事件(i); $H_{Plt-D}(i)$ 是第一悬浮液的血小板 DC 直方图中的事件(i); \min 意味事件 i 取两个直方图中的最小数。

[062] 在方程式(6)和方程式(7)所设定的判据中, 分界点 15 fL 为经验值, 该分界点的值可以随该方法中所使用的仪器和/或试剂变化。与上述实施方式相同, 基于该融合血小板直方图 $H_{Plt-LDa}$ 中曲线下方的面积可以确定血液样本的血小板浓度。

[063] 在又一实施方式中, 也可以通过利用第二悬浮液的 SFL-FSC 散点图中血小板区域 P 的血小板 10b 的光散射信号曲线拟合得到衍生血小板体积直方图 H_{Plt-Lb} , 从而替代方程式(1)或方程式(2)或 Mie 散射理论的方法。在该衍生血小板体积直方图 H_{Plt-Lb} 中, 单独事件的衍生血小板体积 Vol_{p2b} 可以通过方程式(8)表达:

$$Vol_{p2b} = [1/(FSC * \sigma(2\pi)^{1/2})] \exp(-(\ln FSC - \mu)^2 / 2\sigma^2) \quad \text{方程式(8)}$$

其中, FSC 为该 SFL-FSC 散点图中血小板区域一单独事件的前向光散射信号, μ 和 σ 是该拟合曲线的拟合参数。

[064] 在该实施方式中, 融合血小板直方图 $H_{Plt-LDb}$ 可以用方程式(8)所得到的衍生血小板体积直方图 H_{Plt-Lb} 和从第一悬浮液得到的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 依照由方程式(9)和方程式(10)所设定的判据生成的:

$$\text{当 } Vol_p(i) > 12 \text{ fL, } H_{Plt-LDb}(i) = H_{Plt-Lb}(i) \quad (i = 1, 2, \dots, n) \quad \text{方程式(9)}$$

$$\text{当 } Vol_p(i) \leq 12 \text{ fL, } H_{Plt-LDb}(i) = H_{Plt-D}(i) \quad (i = 1, 2, \dots, n) \quad \text{方程式(10)}$$

其中, $H_{Plt-LD_b}(i)$ 是该融合血小板直方图中的事件(i); $H_{Plt-Lb}(i)$ 是用方程式(8)得到的第二悬浮液的衍生血小板体积直方图中的事件(i); 及 $H_{Plt-D}(i)$ 是第一悬浮液的血小板 DC 直方图中的事件(i)。

[065] 在方程式(9)和方程式(10)所设定的判据中, 分界点 12 fL 为经验值, 该分界点的值可以随该方法中所使用的仪器和/或试剂变化。与上述实施方式相同, 基于该融合血小板直方图 H_{Plt-LD_b} 中曲线下方的面积可以确定血液样本的血小板浓度。

[066] 可以理解的是, 融合血小板直方图 H_{Plt-LD_b} 也可以是用方程式(8)所得到的衍生血小板体积直方图 H_{Plt-Lb} 和从第一悬浮液所得到的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 依照前文中所述的与方程式(3)相关的任意一种方法生成的。相似地, 融合血小板直方图 H_{Plt-LD_a} 也可以是用来自第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 和来自第二悬浮液的衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 依照由方程式(9)和方程式(10)所设定的判据生成的。

[067] 在又一实施方式中, 可以根据下述过程用从第一悬浮液得到的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 和从第二悬浮液得到的衍生血小板体积直方图确定血液样本中的血小板浓度, 其中该衍生血小板体积直方图可以由方程式(1)、方程式(2)、Mie 散射理论的方法所得的衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 或由方程式(8)所得的衍生血小板体积直方图 H_{Plt-Lb} 。

[068] 如图 6A 所示, 在该实施方式中, 计算从第一悬浮液得到的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 中的曲线下方具有一位于表示血小板体积 Vol_p 为 15 fL 的线与 Line-S 的线之间的面积, 其中 Line-S 表示该直方图中血小板和红细胞之间的曲线波谷, 该面积被指定为 Area-1。进一步地, 如图 6B 所示, 计算从第二悬浮液得到的衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 中的曲线下方具有一位于表示衍生血小板体积 Vol_{p2} 为 15 fL 的线以右的面积, 该面积被指定为 Area-2。该 Area-2 与直方图中体积大于 15 fL 的血小板相关。然后, 将 Area-1 与 Area-2 之间的绝对差值 δ 与一预设的面积阈值 A_T 进行比较。该预设的面积阈值 A_T 为经验值。根据一融合判据, 使用方程式(11)和方程式(12)计算血液样本的血小板浓度; 当 $\delta > A_T$ 时, 使用方程式(11); 当 $\delta \leq A_T$ 时, 使用方程式(12):

$$C_{plt} = V_{HD}(1) + V_{HD}(2) + \dots + V_{HD}(15) + V_{HL}(16) + V_{HL}(17) + \dots + V_{HL}(n) \quad \text{方程式(11)}$$

$$C_{plt} = V_{HD}(1) + V_{HD}(2) + \dots + V_{HD}(15) + V_{HD}(16) + V_{HD}(17) + \dots + V_{HD}(n) \quad \text{方程式(12)}$$

其中, $V_{HD}(1, 2, \dots, n)$ 分别为血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 上对应于血小板体积为 1 fL、2 fL、.....、n fL 的位置的值, 或者说高度; $V_{HL}(1, 2, \dots, n)$ 分别为衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 上对应于衍生血小板体积为 1 fL、2 fL、.....、n fL 的位置的值, 或者说高度; C_{plt} 为血小板浓度。

[069] 在本实施方式中, 用于计数 Area-1 和 Area-2 的分界点 15 fL 为经验值, 该分界点的值可以随该方法中所使用的仪器和/或试剂变化。可以理解地, 使用方程式(11)和方程式(12)得到的血小板浓度 C_{plt} 应该与上述实施方式中采用融合判据选取血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 和衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 生成融合血小板直方图 H_{Plt-LD_c} 所得到的血小板浓度相似。换言之, 当 $\delta \leq A_T$ 时, 该融合血小板直方图 H_{Plt-LD_c} 是用血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 生成的; 当 $\delta > A_T$ 时, 该融合血小板直方图 H_{Plt-LD_c} 是基于 H_{Plt-D} 和 H_{Plt-L} 生成的, 对于血小板体

积大于 15 fL 的部分采用衍生血小板体积直方图 H_{Ph-L} 的相应部分。然后，与上述实施方式相同，基于该融合血小板直方图中曲线下方的面积可以计算血小板浓度。

[070] 上述各实施方式中的融合血小板直方图是血小板体积分布的图形形式，是呈现连续变量概率分布的常见形式。可选地，该血小板体积分布也可以采用与该体积直方图具有等同或相近分辨率的表格或列表的数字形式呈现，或者采用任何本领域已知的其他适合的方式呈现。因此，为了本公开的目的，上述融合血小板直方图可以被用于指代融合血小板分布，而不受其图形呈现形式的局限。相似地，上述衍生血小板体积直方图也可以被用于指代衍生血小板体积分布，而不受其图形呈现形式的局限。此外，从第一悬浮液获取的血小板 DC 直方图也可以被指代为 DC 血小板体积分布，而不受其图形呈现形式的局限。

[071] 进一步地，与上文中融合血小板直方图 H_{Ph-LD} 所述内容相同，该融合血小板分布是利用从第一悬浮液获取的第一血小板分布和从第二悬浮液获取的第二血小板分布所得的第三血小板分布。基于该第三血小板分布可以得到血小板浓度。

[072] 进一步地，在本公开所描述的方法中，当异常血样样本中含有有核红细胞时，从第二悬浮液获取的该 SFL-FSC 散点图中可以将血小板区域 P 与有核红细胞区分开。

[073] 在其他实施方式中，利用从第一悬浮液获取的第一血小板分布和从第二悬浮液获取的第二血小板分布确定血液样本中的血小板浓度可以使用下文中参考图 7 至图 10C 所描述的方法。

[074] 在一实施方式中，该方法包括：确定第一悬浮液的血小板 DC 直方图中的血小板谷峰比 R_{vp} ，将所得该血小板谷峰比与一预定的比值阈值 R_T 进行比较。如图 7 所示，该血小板谷峰比 R_{vp} 是通过将 Line-S 处所对应的血小板数量除以位于 Line-P 所示的波峰处所对应的血小板数量所确定的，换言之，是将曲线在 Line-S 处的高度除以位于 Line-P 处的波峰的高度。如上文中所述，Line-S 位于图 7 的两个群体之间的边界区域 B，其示出该直方图中血小板与红细胞之间的波谷的底部。可以用大量的正常血液样本得到所述预定的比值阈值 R_T 。例如，该预定的比值阈值 R_T 可以是正常血液样本的血小板谷峰比的最大值。

[075] 进一步地，如图 8 所示，该方法还包括：确定第二悬浮液的 SFL-FSC 散点图中血小板区域 P 中一指定区域 P_G 中的事件数 N。图 8 中位于该血小板区域 P 和该指定区域 P_G 的群体可以更清晰地 在图 9A 所示的放大图中看出。我们发现该血小板区域 P 内的该指定区域 P_G 中的事件数 N 与大血小板相关。对于正常血液样本，在出现在该指定区域 P_G 中的事件数非常有限。因此，该指定区域 P_G 中的事件数 N 的抬高表示由于大血小板与红细胞的重叠对 DC 阻抗测量第一悬浮液的血小板结果的潜在干扰，其抬高程度可以进一步反映上述潜在干扰的程度。可以依照一预定的事件数阈值 G_T 评估该指定区域 P_G 中的事件数 N 的抬高。该预定的事件数阈值 G_T 可以通过大量的正常血液样本得到，其反映正常血液样本中该指定区域 P_G 中的事件数的最大值。在血液样本的分析中，如果检测到的 N 值超过 G_T 值，表明该指定区域 P_G 中的事件数存在不正常的抬高。

[076] 当一血液样本的血小板谷峰比 R_{vp} 和指定区域 P_G 中的事件数 N 确定之后，该方法进一步确定从第一悬浮液获取的血小板 DC 直方图中血小板和红细胞之间的波谷的衍生分隔阈值 T_d ，从而用这些参数将血小板同红细胞区分开。

[077] 在一实施方式中, 该衍生分隔阈值 T_d 可以依照方程式(13)确定:

$$T_d = T_{ap} + F_{of} \quad \text{方程式(13)}$$

其中, T_{ap} 为表观 (apparent) 分隔阈值, 为现有技术中分隔第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 中的血小板与红细胞的阈值, 根据这两个群体之间波谷的底端位置和血小板已知的尺寸范围确定; F_{of} 为偏移量, 是第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 中的血小板谷峰比 R_{vp} 和上述第二悬浮液的 SFL-FSC 散点图中血小板区域 P 中指定区域 P_G 中的事件数 N 的函数。

[078] 在一示范性实施方式中, F_{of} 可以依照一偏移量判据用方程式(14)或方程式(15)确定:

$$F_{of} = b_1 * R_{vp} - b_2 * N + c \quad \text{方程式(14)}$$

其中, R_{vp} 为第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 中的血小板谷峰比; N 为第二悬浮液的 SFL-FSC 散点图中血小板区域 P 中指定区域 P_G 中的事件数; b_1 、 b_2 为大于 0 的常量; c 为一常量。

$$F_{of} = b_{11} * R_{vp} + b_{21} * N + c_1 \quad \text{方程式(15)}$$

其中, R_{vp} 与 N 的含义与方程式(14)中相同; b_{11} 、 b_{21} 为大于 0 的常量; c_1 为一常量。

[079] 该偏移量判据可以规定为, 如果 R_{vp} 大于 R_T 而 N 小于 G_T , 使用方程式(14)确定方程式(13)中的该衍生分隔阈值 T_d ; 如果 R_{vp} 大于 R_T 且 N 也大于 G_T , 使用方程式(15)确定方程式(13)中的该衍生分隔阈值 T_d 。此外, 根据该偏移量判据, 如果 R_{vp} 没有超过 R_T , 不使用方程式(14)或方程式(15), 也即是说方程式(13)中的 F_{of} 为 0。

[080] 通过方程式(13)-(15)及该偏移量判据得到该衍生分隔阈值 T_d 之后, 该衍生分隔阈值 T_d 被用于区分第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 中两个细胞群体, 即, 用于分隔血小板与红细胞。基于该直方图中该衍生分隔阈值 T_d 所确定的血小板群体的曲线下方的面积可以确定该血液样本的血小板浓度。

[081] 图 9A-9C 及图 10A-10C 分别示出了用上述方法确定异常血液样本的血小板浓度的过程。图 9A-9C 示出了确定一含有大血小板的异常血液样本中的血小板浓度的过程。如图 9A 所示, 在来自该血液样本的第二悬浮液的 SFL-FSC 散点图中, 该指定区域 P_G 中出现较大数量的事件数 N, 该 N 超过预定的事件数阈值 G_T 。另一方面, 在图 9B 所示的第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 中, 其血小板谷峰比 R_{vp} 也超过了预定的比值阈值 R_T 。因此, 根据上述偏移量判据, 方程式(15)被用于确定偏移量 F_{of} 。如图 9C 所示, 在该血液样本的第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 中, 由方程式(13)所得到的该衍生分隔阈值 T_d 相对于该表观分隔阈值 T_{ap} 向右偏移, 其偏移的程度有方程式(15)所得的 F_{of} 决定。

[082] 在图 9A-9C 所示的实施例, 通过流式细胞仪作为参考方法检测所得的血小板浓度为 $87 * 10^9/L$, 而采用图 9C 中所示的表观分隔阈值 T_{ap} 的现有阻抗检测方法所报告的血小板浓度为 $63 * 10^9/L$, 后者远远低于流式细胞仪参考方法所得的结果。采用由方程式(13)所得的衍生分隔阈值 T_d 及上文所述的偏移量判据得到的血小板浓度为 $84 * 10^9/L$ 。由此说明, 本方法能够评估第二悬浮液的 SFL-FSC 散点图中大血小板的存在, 亦能够补偿大血小板对血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 检测结果的影响, 因此本方法能够修正现有阻抗方法检测含有大血小板的血液样本的血小板浓度中经常现的误差。

[083] 图 10A-10C 进一步示出了确定一含有红细胞碎片的异常血液样本的血小板浓度的过程。如图 10B 所示, 在该血液样本的检测中, 来自第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 中的血小板谷峰比 R_{vp} 超过了预定的比值阈值 R_T ; 然而, 如图 10A 所示, 第二悬浮液的 SFL-FSC 散点图中该指定区域 P_G 的事件数 N 是正常的, 并没有超过预定的事件数阈值 G_T 。根据上述偏移量判据, 方程式(14)被用于确定偏移量 F_{of} 。如图 10C 所示, 在该血液样本的第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 中, 由方程式(13)所得到的该衍生分隔阈值 T_d 相对于该表观分隔阈值 T_{ap} 向左偏移, 其偏移的程度由方程式(14)所得的 F_{of} 决定。在该实施例中, 基于流式细胞仪参考方法检测所得的血小板浓度为 $46 \times 10^9/L$, 而采用图 10C 中所示的表观分隔阈值 T_{ap} 的现有阻抗检测方法所报告的血小板浓度为 $66 \times 10^9/L$, 高于流式细胞仪参考方法所得结果 40%。采用由方程式(13)所得的衍生分隔阈值 T_d 及上文所述的偏移量判据得到的血小板浓度为 $42 \times 10^9/L$ 。由此说明, 本方法能够修正现有阻抗方法检测含有红细胞碎片的血液样本的血小板浓度中经常见的误差。

[084] 进一步地, 在某些实施方式中, 该衍生分隔阈值也可以基于方程式(16)确定:

$$T_d' = T_{ap} + g*(N - G_T) + h*(R_{vp} - R_T) + s \quad \text{方程式(16)}$$

其中, N 为第二悬浮液的 SFL-FSC 散点图中血小板区域 P 中指定区域 P_G 中的事件数; G_T 为预定的事件数阈值; R_{vp} 为第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 中的血小板谷峰比; R_T 为预定的比值阈值; g 、 h 及 s 为常量, 其中当 $R_{vp} \leq R_T$ 时, g 、 h 及 s 的值均为 0。

[085] 当使用方程式(16)确定血液样本的血小板浓度时, 该衍生分隔阈值 T_d' 通过一 N 和 R_{vp} 的函数计算, 其分别来自于对第二悬浮液的光散射和荧光信号的分析和对第一悬浮液的 DC 阻抗信号的分析, 如上文所述。通过与图 9C 和图 10C 所示的相同方式, 采用方程式(16)所得的衍生分隔阈值 T_d' 可以区分第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 中的血小板和红细胞。之后, 基于该直方图中该衍生分隔阈值 T_d' 所确定的血小板群体的曲线下方的面积可以确定该血液样本的血小板浓度。

[086] 可以理解的是, 在上述与方程式(13)-(16)相关的实施方式中, 用衍生分隔阈值从第一悬浮液所得的血小板 DC 直方图将血小板与红细胞区分后所得的血小板分布是另一种形式的第三血小板分布, 该第三血小板分布是基于来自第一悬浮液的第一血小板分布和来自第二悬浮液的第二血小板分布 (即, 上述散点图中血小板区域的血小板的二维分布) 获取的。根据该第三血小板分布可得到血小板浓度。

[087] 可以理解的是, 在上文所描述的任一实施方式中, 根据所获取的第三血小板分布, 如融合血小板直方图 $H_{Plt-LDa}$ 、 $H_{Plt-LDb}$ 、 $H_{Plt-LDc}$ 、或利用衍生分隔阈值 T_d 或 T_d' 在血小板 DC 直方图所区分的血小板群体的曲线, 可以得到多种形式的血小板分析数据。所得的血小板分析数据包括但不限于血小板计数 (PLT)、平均血小板体积 (MPV)、血小板分布宽度 (PDW)、血小板压积 (PCT) 等。

[088] 进一步地, 在某些实施方式中本方法可以进一步包括利用第二悬浮液的光散射和荧光信号将白细胞区分为其亚群的步骤。白细胞的主要亚群包括淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞。图 12 示出一 SFL、SSC 和 FSC 的三维散点图, 基于一血液样本的第二悬浮液的荧光信号、侧向光散射信号和前向光散射信号将白细胞区分为四个亚群: 淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞。进一步地, 在其他实施方式中, 可以基于该第二悬浮液的光散射信号和荧光信号将白细胞中的嗜碱性粒细胞

与其他白细胞亚群进行区分。在其他实施例中，本方法可以进一步包括计数第二悬浮液中白细胞的数量，报告血液样本中白细胞计数的步骤。本领域技术人员可以理解，本方法还可以包括基于该第二悬浮液的光散射信号和荧光信号识别有核红细胞、未成熟细胞或原始细胞的步骤。例如，如图 13 所示，当血液样本中存在未成熟细胞时，本方法基于该第二悬浮液的光散射信号和荧光信号可以识别未成熟细胞，并可以将白细胞区分为四个亚群：淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞。

[089] 图 15 简要示出了适用于执行本公开所述方法的血液分析系统 100 的方框图。该血液分析系统 100 包括第一模块 200、第二模块 300 和数据处理模块 400。该第一模块 200 包括第一混合室 210 和 DC 阻抗检测器 230。该第一混合室 210 用于将血液样本的份试样与稀释液混合以形成第一悬浮液。该 DC 阻抗检测器 230 具有设置于流通过径的小孔 220 的电极，该流通过径与该第一混合室 210 相连通。该 DC 阻抗检测器 230 用于检测该第一悬浮液通过该小孔 220 的 DC 阻抗信号。

[090] 该第二模块 300 包括第二混合室 310、光源 330 及至少一光学检测器 340。该第二混合室 310 用于将血液样本的份试样与溶血剂及荧光染料混合以形成第二悬浮液。该光源 330 用于将其发射的光束对准与该第二混合室 310 相连通的光学流动室 320 的检测孔。该光学流动室 320 装配有该至少一光学检测器 340，用于检测通过该光学流动室 320 的检测孔的第二悬浮液的光散射信号和荧光信号。在一示范性实施方式中，该血液分析系统 100 可以包括一发射波长为 640 nm 的红色半导体激光器作为光源和分别能够检测前向光散射、侧向光散射和荧光信号的 3 个光学检测器。如上文中所述的，该前向光散射信号可以从与入射光束约 1° 至约 10° 的角度上或者约 2° 至约 6° 的角度上进行检测，该侧向光散射信号和荧光信号可以与入射光束呈约 90° 的方向进行检测。在一示范性实施方式中，该前向光散射信号可以从与入射光束约 1° 至约 10° 的角度上进行检测，该侧向光散射信号可以从与入射光束约 65° 至约 115° 的角度上进行检测。该血液分析系统 100 还可以包括用于检测其它角度的光散射信号的一个或多个光学检测器。

[091] 在图 15 所示的实施方式中，该第一混合室 210 和该第二混合室 310 分别用于制备相应的悬浮液。在一替代实施方式中，该血液分析系统可以具有一共用混合室，例如，按顺序方式制备第一和第二悬浮液。该共用混合室可以在制备两种不同的悬浮液之间通过稀释液进行清洗。

[092] 该数据处理模块 400 分别与第一模块 200 的 DC 阻抗检测器 230 和第二模块 300 中的光学检测器 340 可操作地连接。如图 15 所示，该数据处理模块 400 包括至少一处理器 410 和一存储系统 420，该存储系统 420 可以存储用于实现本文所公开的方法的各个方面的功能的基础程序和数据结构。该存储系统 420 可以包括一个或多个存储器和一个或多个非暂时性计算机可读存储介质。该非暂时性计算机可读存储介质可以包括硬盘驱动器、软盘、光盘、安全数字记忆卡 (SD 卡)、闪存卡或其类似物。该存储器可以包括用于存储程序指令和数据的主随机存取存储器 (RAM) 或动态 RAM (DRAM) 及用于存储固定指令的只读存储器 (ROM)。该非暂时性计算机可读存储介质被计算机应用程序编程以实现本文所公开的方法的功能，并由一个或多个处理器 410 执行相应程序。当所述处理器执行上述存储于该非暂时性计算机可读存储介质的计算机应用时，所述处理器根据本文所公开的方法确定血液样本的血小板浓度，以及进行白细胞分类和计数，或识别有核红细胞、未成熟细胞或原始细胞。

[093] 该数据处理模块 400 被设置用于执行本文所描述的方法的各个方面。第一模块所检测的 DC 阻抗信号

和第二模块所检测的光散射和荧光信号可以分别被实时地处理。在示范性实施方式中，可以用现场可编程门阵列 (Field-Programmable Gate Array, FPGA)、数字信号处理 (DSP) 或 CPU 处理这些信号。然后，处理后的 DC 阻抗信号、光散射和荧光信号被编程的计算机应用自动分析以获取第一和第二血小板分布，并根据本文所描述的方法确定血液样本的血小板浓度。进一步地，该第二模块的信号还可以被用于分类和计数白细胞，或识别有核红细胞、未成熟细胞或原始细胞。

[094] 该血液分析系统 100 进一步包括用户界面 500，该用户界面 500 包括用户界面输入设备和输出设备。本文所述方法得到的结果可以被显示于用户界面输出设备，如计算机屏幕。该用户界面输出设备除了可以显示本文所述方法得到的血小板浓度和白细胞分类结果，还可以显示图形结果，例如如图 5 所示的融合血小板直方图 H_{Plt-LD} (或 $H_{Plt-LDa}$ 、 $H_{Plt-LDb}$)、如图 9C 或图 10C 所示的具有衍生分隔阈值 T_d 的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 、或呈现白细胞亚群分类的 2D 或 3D 散点图。所显示的内容还可以进一步包括本文所述方法的中间步骤所得到的信息，例如，第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 、衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} (或 H_{Plt-Lb})、如图 4 所示的 H_{Plt-D} 和 H_{Plt-L} 的叠加图、或 H_{Plt-D} 和 H_{Plt-LD} 的叠加图、SFL-FSC 散点图、如图 3A 和图 3B 所示的血小板区域 P 的局部放大图、如图 9A 和图 10A 所示的 SFL-FSC 散点图的指定区域 P_G 等。所显示的血小板信息可以以多种不同的方式呈现，例如与被测血液样本中其他类型的细胞的分析结果一起被显示、在指定的血小板屏幕显示、以分层的方式显示以使用户根据兴趣选择特定显示、及其他可替代方案。

[095] 在又一实施方式中，上述用于确定血液样本中血小板浓度的方法可以通过对该血液样本的第二悬浮液的多角度光散射检测实现，而不需进行荧光检测。具体地，发明人发现来自第二悬浮液的侧向光散射信号或中角度光散射信号可以用于获取第二血小板分布，从而可以替换掉上文所述方法中确定血液样本的血小板浓度中的荧光信号。其中，在前向光散射和侧向光散射之间的一角度检测中角度光散射信号。在一示范性实施方式中，该前向光散射信号可以从与入射光束约 1° 至约 10° 的角度上进行检测，该侧向光散射信号可以从与入射光束约 65° 至约 115° 的角度上进行检测。在另一示范性实施方式中，该前向光散射信号可以从与入射光束约 2° 至约 6° 的角度上进行检测，位于低中角度的光散射信号可以从与入射光束约 8° 至约 24° 的角度上进行检测，后者被称为低中角度光散射。此外，也可以从与入射光束约 25° 至约 65° 的角度上进行检测位于高中角度的光散射信号，被称为高中角度光散射信号。

[096] 下面将参照图 11A 和图 11B 进一步描述本实施方式。图 11A 和图 11B 分别示出了获取自一正常血液样本及一含有大血小板的异常血液样本的第二悬浮液的前向光散射-侧向光散射 (FSC-SSC) 散点图。如图所示，在该 FSC-SSC 散点图中血小板区域 P' 与白细胞区域 W' 被区分。类似于上文中所述的利用荧光和光散射检测的方法，在本实施方式中，第二血小板分布可以是如图 11A 和图 11B 所示的位于血小板区域 P' 的血小板的二维分布形式，也可以是如图 3C 所示的衍生血小板体积直方图的一维分布形式。从第二悬浮液的光散射信号所获取的第二血小板分布与从第一悬浮液所获取的第一血小板分布可以用于确定血液样本的血小板浓度，其具体方法如上文所述。

[097] 更具体地，血液样本的血小板浓度可以参照前文有关方程式(1)-(3)所述的方法确定。在本实施方式中，可以利用第二悬浮液的 FSC-SSC 散点图中位于血小板区域 P' 的血小板的前向光散射信号基于方程式(1)或方程式(2)得到衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} ，也可以利用第二悬浮液的 FSC-SSC 散点图中位于血小板区域

P'的血小板的前向光散射信号和侧向光散射信号基于Mie散射理论得到衍生血小板体积直方图 H_{Pl-L} ，二者的具体方法如上文所述，在此不再赘叙。然后，基于方程式(3)，利用第一悬浮液的血小板DC直方图 H_{Pl-D} 和第二悬浮液的衍生血小板体积直方图 H_{Pl-L} 得到融合血小板直方图 H_{Pl-LD} 。在本实施方式中，方程式(3)中所代入的衍生血小板体积直方图 H_{Pl-L} 中的事件(i)为衍生血小板体积直方图 H_{Pl-L} 中的事件(i)。之后根据该融合血小板直方图 H_{Pl-LD} 中曲线下方的面积可以确定血小板浓度。

[098] 相似地，血液样本的血小板浓度也可以参照前文所述的有关融合血小板直方图 H_{Pl-LDa} 的方法确定。在本实施方式中，可以基于方程式(6)和方程式(7)，利用第一悬浮液的血小板DC直方图 H_{Pl-D} 和第二悬浮液的FSC-SSC散点图中位于血小板区域P'的血小板的光散射信号的衍生血小板体积直方图 H_{Pl-L} 生成融合血小板直方图 H_{Pl-LDa} 。在本实施方式中，方程式(6)中所代入的衍生血小板体积直方图 H_{Pl-L} 中的事件(i)为衍生血小板体积直方图 H_{Pl-L} 中的事件(i)。之后根据该融合血小板直方图 H_{Pl-LDa} 中曲线下方的面积可以确定血小板浓度。

[099] 进一步地，血液样本的血小板浓度也可以参照前文所述的有关融合血小板直方图 H_{Pl-LDb} 的方法确定。在本实施方式中，可以基于方程式(9)和方程式(10)所设定的判据，利用第一悬浮液的血小板DC直方图 H_{Pl-D} 和用方程式(8)所得的第二悬浮液的FSC-SSC散点图中位于血小板区域P'的血小板的前向光散射信号的衍生血小板体积直方图 H_{Pl-Lb} 生成融合血小板直方图 H_{Pl-LDb} 。在本实施方式中，方程式(9)中所代入的衍生血小板体积直方图 H_{Pl-L} 中的事件(i)为衍生血小板体积直方图 H_{Pl-L} 中的事件(i)。之后根据该融合血小板直方图 H_{Pl-LDb} 中曲线下方的面积可以确定血小板浓度。

[0100] 此外，血液样本的血小板浓度也可以参照前文所述的有关方程式(11)和方程式(12)的方法确定。在本实施方式中，可以依照前文所述的融合判据用方程式(11)和方程式(12)计算血小板浓度。在本实施方式中，方程式(11)中所定义的衍生血小板体积直方图 H_{Pl-L} 中的各元素为所述FSC-SSC散点图中位于血小板区域P'的血小板的光散射信号的衍生血小板体积直方图 H_{Pl-L} 中的对应要素，所述融合判据中的绝对差值 δ' 为血小板DC直方图 H_{Pl-D} 的Area-1与衍生血小板体积直方图 H_{Pl-L} 的Area-2'之间的绝对差值，并被进一步与一预设的面积阈值 A_T' 进行比较。

[0101] 如前文所述，在利用多角度光散射测量第二悬浮液的实施方式中，该融合血小板直方图 H_{Pl-LDa} 或 H_{Pl-LDb} 为第三血小板分布，该第三血小板分布是用从第一悬浮液获取的第一血小板分布和从第二悬浮液获取的第二血小板分布（即衍生血小板体积直方图）得到的。基于该第三血小板分布可以得到血小板浓度。

[0102] 进一步地，该血小板浓度也可以参照方程式(13)-(15)相关的方法确定。以图10B来说明没有荧光信号情况下的血小板浓度确定方法，该血液样本，从第二悬浮液获取的FSC-SSC散点图的血小板区域P'中的指定区域 P_G 出现的事件数较大。在该实施方式中，以相似的方式利用如前文中所述的方程式(13)-(15)及偏移量判据，可以将有关该第二血小板分布的上述信息与来自第一悬浮液的血小板DC直方图 H_{Pl-D} 中的血小板谷峰比 R_{Vp} 一起用于确定偏移量 F_{of} 和衍生分隔阈值 T_d 。在这种情况下，方程式(14)和方程式(15)中的N为从第二悬浮液获取的FSC-SSC散点图的血小板区域P'中指定区域 P_G' 中存在的事件数。所得的该衍生分隔阈值 T_d 被用于区分第一悬浮液的血小板DC直方图 H_{Pl-D} 中的血小板与红细胞，从而如图9C和图10C所示的方式得到血小板浓度。在本实施方式中，该预定的事件数阈值 G_T' 可以通过大量的正常血液样本

得到，其反映正常血液样本的第二悬浮液的 FSC-SSC 散点图的血小板区域 P' 中位于指定区域 P_G' 中的事件数的最大值。

[0103] 进一步地，在本实施方式中，该衍生分隔阈值 T_d 也可以用方程式(16)确定，其中 N 为从第二悬浮液获取的 FSC-SSC 散点图的血小板区域 P' 中指定区域 P_G' 的事件数，G_T 为该指定区域 P_G' 的预定的事件数阈值。

[0104] 相应于该实施方式，用于执行上述实施方式所述方法的血液分析系统包括第二模块，该第二模块包括一个或多个光学检测器用于检测通过光学流动室的检测孔的第二悬浮液的前向光散射信号和侧向光散射信号。可选地，该第二模块的光学检测器也可以被设置为用于检测通过光学流动室的检测孔的第二悬浮液的前向光散射信号和中角度光散射信号。在这种情况下，图 15 中所示的血液分析系统可以包括两个光学检测器，一个用于检测第二悬浮液的前向光散射信号，另一个用于检测第二悬浮液的侧向光散射信号或中角度光散射信号。

[0105] 此外，在本实施方式中，该数据处理模块被设置用于分别分析来自第一模块的第一悬浮液的 DC 阻抗信号和来自第二模块的第二悬浮液的光散射信号，并实施本实施方式的各个方面。与图 15 所描述的方式相同地，当处理器执行存储于该非暂时性计算机可读存储介质的计算机应用时，所述处理器根据本实施方式所述的方法确定血液样本的血小板浓度并执行白细胞分类和计数。

[0106] 可以理解地，在本实施方式中，制备第二悬浮液的过程不需要加入荧光染料。在本实施方式中，所述溶解试剂中包括用于溶解第二份试样中的红细胞的一种或多种溶解剂，但不含有荧光染料。进一步地，多种现有的用于血液分析仪白细胞分类的溶解试剂可以用于制备所述第二悬浮液。例如，可以采用美国专利 U.S. 7,413,905 所描述的溶解试剂配方，其全部公开内容通过引证结合于此。具体地，如美国专利 U.S. 7,413,905 所述，该溶解试剂可以包括一种或多种表面活性剂作为溶血剂溶解红细胞并部分地损伤白细胞的细胞膜、一种具有能够与白细胞中所存在的阳离子成分结合的阴离子基团的有机化合物用于使白细胞的亚群之间出现形态差异、以及用于将试剂的 pH 值调节至 2-8 之间的缓冲溶液。该溶血剂可以包括一种或多种阳离子表面活性剂、一种或多种阴离子表面活性剂、一种或多种两性表面活性剂、一种或多种阳离子表面活性剂与一种或多种两性表面活性剂的组合、或者一种或多种阴离子表面活性剂与一种或多种两性表面活性剂的组合。

[0107] 由于不需要检测荧光，本实施方式所提供的系统相较于现有血液分析仪具有结构简单和成本低的优点。本实施方式可以在现有的配置有前向光散射和侧向光散射检测功能的血液分析仪或配置有前向光散射和中角度光散射检测功能的血液分析仪上实施。此外，由于检测中不需要使用荧光染料，本实施方式所提供的方法大大降低了试剂成本。本领域技术人员能够理解，本实施例的方式，也适用于检测荧光的血液分析仪中，该分析仪能同时检测前向散射光、侧向散射光和荧光信号即可。

[0108] 进一步地，本实施方式所述的方法还可以包括基于第二悬浮液的光散射信号将白细胞分类为其亚群的步骤。图 14 中的 FSC-SSC 散点图示出了基于第二悬浮液的光散射信号将白细胞区分为淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞的实施例。在其他实施方式中，还可以基于第二悬浮液的光散射信号

进一步将嗜碱性粒细胞与其他白细胞亚群区分开。此外，本实施方式所述的方法还可以进一步包括计数第二悬浮液中白细胞的数量，报告血液样本中白细胞计数的步骤。

[0109] 实施例 1-7 进一步说明上述确定血液样本中血小板浓度的方法。在实施例 1 中，采用一能够检测前向光散射、侧向光散射和荧光信号的血液分析仪检测 25 个血液样本的血小板浓度，这 25 个血液样本包括 5 个正常血液样本和 20 个异常血液样本，这些异常血液样本中包括红细胞碎片、小红细胞或大血小板。用流式细胞仪作为参考方法检测相同的血液样本的血小板浓度，并用常规 DC 阻抗检测方法检测这些血液样本的血小板浓度作为对照。

[0110] 图 16 示出了通过常规 DC 阻抗检测方法所获取的这些血液样本的血小板浓度与通过流式细胞仪参考方法获取的这些血液样本的血小板浓度的相关性。如图所示，通过常规 DC 阻抗检测方法所获取的这些血液样本的血小板浓度与参考方法所得的结果之间相关性较差。这是因为大部分血液样本都是包括已知的会干扰常规血小板 DC 阻抗检测的红细胞碎片、小红细胞或大血小板的异常血液样本。这 25 个血液样本的线性回归分析中的相关系数 R^2 为 0.8343。我们发现常规 DC 阻抗检测方法检测含有红细胞碎片或小红细胞的血液样本所得的血小板浓度明显高于参考方法所得的结果，而常规 DC 阻抗检测方法检测含有大血小板的血液样本所得的血小板浓度明显低于参考方法所得的结果。

[0111] 图 17 示出了通过本公开的方法中方程式(3)生成的融合血小板直方图 H_{Plt-LD} 所得的这 25 个血液样本的血小板浓度与流式细胞仪参考方法所得的结果密切相关，其相关系数 R^2 为 0.9940。由此可以说明，使用本公开所描述的融合血小板直方图 H_{Plt-LD} 可以有效地校正常规 DC 阻抗方法对存在红细胞碎片、小红细胞或大血小板的异常血液样本的血小板检测结果的误差。

[0112] 相似地，在实施例 2 中，图 18 示出了通过本公开的方法中方程式(6)和方程式(7)所设定的判据生成的融合血小板直方图 $H_{Plt-LDa}$ 所得的这 25 个血液样本的血小板浓度与流式细胞仪参考方法所得的结果密切相关，其相关系数 R^2 为 0.9739。在实施例 3 中，采用本公开的方法中方程式(8)所设定的曲线拟合过程用血小板区域 P 的光散射信号获取衍生血小板体积直方图 H_{Plt-Lb} 以生成融合血小板直方图 $H_{Plt-LDb}$ 。图 19 示出了通过融合血小板直方图 $H_{Plt-LDb}$ 所得的这 25 个血液样本的血小板浓度与流式细胞仪参考方法所得的结果密切相关，其相关系数 R^2 为 0.9681。在实施例 4 中，图 20 示出了通过本公开的方法基于融合判据用方程式(11)和方程式(12)所得的这 25 个血液样本的血小板浓度与流式细胞仪参考方法所得的结果密切相关，其相关系数 R^2 为 0.9797。这三个实施例均说明其方法能够准确地检测血液样本的血小板浓度，并有效地校正常规 DC 阻抗方法对存在红细胞碎片、小红细胞或大血小板的异常血液样本的血小板检测结果的误差。

[0113] 实施例 5 进一步说明通过本公开的方法用方程式(13)-(15)和所述偏移量判据检测血液样本的血小板浓度的方法。在检测中也采用了与实施例 1 相同的 25 个血液样本。图 21 示出了通过方程式(13)-(15)所得的这 25 个血液样本的血小板浓度与流式细胞仪参考方法所得的结果密切相关，其相关系数 R^2 为 0.9937。这说明该方法能够准确地检测血液样本的血小板浓度，并有效地校正常规 DC 阻抗方法对存在红细胞碎片、小红细胞或大血小板的异常血液样本的血小板检测结果的误差。

[0114] 实施例 1-5 的检测血小板的方法被应用于对红细胞溶血后进行白细胞分类的步骤中。实施例 6 说

明了本公开的方法被应用于对红细胞溶血后进行有核红细胞分类的步骤中。实施例 6 和 7 说明了通过本公开的方法用方程式(3)生成的融合血小板直方图 H_{Plt-ND} 。图 22 进一步示意了实施例 6 中,生成融合血小板直方图 H_{Plt-ND} 的过程,与图 5 生成 H_{Plt-LD} 类似,具体不再赘述。

[0115] 研究发现,利用荧光-侧散散点图(SFL-SSC)上也可以区分出血小板区域如图 23 所示。因此,当样本经过有核红细胞检测部,同时获取荧光信号、前向散射光信号和侧向散射光信号,可以先通过荧光-侧散散点图(SFL-SSC)区分出 P 区,然后至少根据每个细胞的前向散射光信号,获得衍生血小板体积直方图 H_{Plt-ND} 。具体过程如前所述,不再赘述。

[0116] 类似的,在实施例 7 中,也可以用方程式 13-15 相关方法确定样本的血小板浓度。图 24 显示第二悬浮液获取的前散-侧散散点图(FSC-SSC)的血小板区域中的指定区域 PG 出现的事件数正常。在该实施方式中,以相似的方式利用如前文中所述的方程式(13)-(15)及偏移量判据,可以将有关该第二血小板分布的上述信息与来自第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 中的血小板谷峰比 $R_{v/p}$ 一起用于确定偏移量 F_{of} 和衍生分隔阈值 T_d 。在这种情况下,方程式(14)和方程式(15)中的 N 为从第二悬浮液获取的 FSC-SSC 散点图的血小板区域中指定区域 PG 中存在的事件数。所得的该衍生分隔阈值 T_d 被用于区分第一悬浮液的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 中的血小板与红细胞,从而如下所示的方式得到血小板浓度。同样的,也可以利用荧光-侧向散射光(SFL-SSC)散点图识别指定区域 PG,判断事件数是否正常。

[0117] 上述实施例说明本公开的方法提供对血液样本的血小板浓度准确的检测,尤其对常规 DC 阻抗方法检测血小板存在干扰的情况非常有效,如含有红细胞碎片、小红细胞或大血小板的异常血液样本。因此,本公开的方法解决了现有血小板阻抗检测方法中存在的问题,满足了体外诊断分析领域长久以来对准确测定血小板浓度的需求。此外,如前文中提到的一些现有的高端血液分析仪在常规阻抗检测之外还对血小板进行单独的光学检测,以区分干扰物质并消除干扰对血小板检测结果的影响。然而,这大大增加了仪器的复杂性和制造成本。相较于现有技术,本公开的方法可以在具有全血细胞技术(CBC)和白细胞分类检测功能的各种商业血液分析仪上实施,而不会增加仪器成本。因此,特别有利地,本公开的方法可以广泛地应用于体外诊断领域现有仪器上以提高血小板检测的准确度。

[0118] 下面的实施例仅用于说明,并不能被理解为对本公开保护范围的限定。可以理解的是,根据本公开的精神进行各种变形或修改都包含在本发明的保护范围之内。

[0119] 实施例 1

[0120] 使用商业血液分析仪 BC-6800(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,中国深圳)测量全血样本,并且对从第一和第二悬浮液获取的数据采用前述一实施方式的方法进行分析。

[0121] BC-6800 血液分析仪包括 CBC 模块和分类模块。该 CBC 模块包括一混合室和 DC 阻抗检测器,该混合室被设置用于将血液样本的份试样与稀释液混合以形成第一悬浮液,该 DC 阻抗检测器被设置用于测量流过流通过径的小孔的该第一悬浮液的 DC 阻抗信号。该分类模块包括另一混合室、红外半导体激光器和多个光学检测器,该混合室被设置用于将血液样本的另一份试样与溶血剂及荧光染料混合以形成第二悬浮液,该红外半导体激光器作为光源具有 640 nm 的发射波长并将其发射的光束对准光学流动室的检测

孔，多个光学检测器能够检测通过该光学流动室的检测孔的第二悬浮液的从与入射光束约 1° 至约 10° 的角度上的前向光散射信号、从与入射光束约 65° 至约 115° 的角度上的侧向光散射信号及荧光信号。

[0122] 在该 CBC 模块中， $4\ \mu\text{L}$ 抗凝全血样本被与 $1.5\ \text{mL}$ M-68DS 稀释液（为深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司的产品，中国深圳）混合，形成第一悬浮液。在该分类模块中， $20\ \mu\text{L}$ 相同的全血样本被与 $1\ \text{mL}$ M-68LD Lyse 和 $20\ \mu\text{L}$ M-68FD 染料（均为深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司的产品，中国深圳）以溶解红细胞并染色有核酸物质的血细胞，形成第二悬浮液。该 M-68LD Lyse 为含有阳离子表面活性剂、非离子表面活性剂和阴离子化合物的水溶液，用于溶解血液样本中的红细胞的。该 M-68FD 染料为含有阳离子花菁化合物的水溶液，用于染色血液样本中的有核酸物质的血细胞。

[0123] 对该第一悬浮液的 DC 阻抗信号检测所收集到的数据进行分析，生成如图 1 所示的血小板 DC 直方图 $H_{\text{Plt-DC}}$ 。对该第二悬浮液的前向光散射信号和荧光信号检测所收集到的数据进行分析以在如图 3A-3B 所示的 SFL-FSC 散点图中区分血小板区域 P 与白细胞区域 W。在该实施例中，基于该血小板区域 P 中的血小板的前向光散射信号用方程式(1)计算衍生血小板体积。然后，依照上述方程式(3)生成融合血小板直方图 $H_{\text{Plt-LD}}$ 。在该实施例中，方程式(3)中的 k_{i1} 和 k_{i2} 是常数，其中，当 $\text{Vol}_p(i) > 20\ \text{fL}$ 时， $k_{i1} = 1, k_{i2} = 0$ ；当 $\text{Vol}_p(i) \leq 20\ \text{fL}$ 时， $k_{i1} = 0, k_{i2} = 1$ 。基于该融合血小板直方图 $H_{\text{Plt-LD}}$ 中曲线下方的面积确定该血液样本的血小板浓度。

[0124] 25 个全血血液样本被分析，包括 5 个正常血液样本、10 个含有红细胞碎片或小红细胞的异常血液样本和 10 个含有大血小板的异常血液样本。通过在显微镜下手工检查血液涂片证实这些异常血液样本中存在的红细胞碎片、小红细胞或大血小板。在 BriCyte E6 流式细胞仪上（为深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司的产品，中国深圳）将这些血液样本采用 RBC/血小板比例方法（一种国际血液学标准化委员会 (ICSH) 和国际实验室血液学学会 (ISLH) 所推荐的参考方法），进行分析。此外，由 BC-6800 血液分析仪使用常规 DC 阻抗检测方法报告的这些血液样本的血小板浓度被用于比较对照。

[0125] 图 16 示出了通过常规 DC 阻抗检测方法所获取的这些血液样本的血小板浓度与通过流式细胞仪参考方法所得的结果的相关性。如图所示，通过常规 DC 阻抗检测方法所获取的这些血液样本的血小板浓度与参考方法所得的结果之间相关性较差。常规 DC 阻抗检测方法检测含有红细胞碎片或小红细胞的异常血液样本所得的血小板浓度明显高于参考方法所得的结果，而常规 DC 阻抗检测方法检测含有大血小板的血液样本所得的血小板浓度明显低于参考方法所得的结果。这 25 个血液样本的线性回归分析中的相关系数 R^2 为 0.8343。

[0126] 图 17 示出了通过本公开中与方程式(3)相关的方法所得的这些血液样本的血小板浓度与使用流式细胞仪参考方法所得的结果的相关性。如图所示，通过本公开的方法中方程式(3)生成的融合血小板直方图所得的血液样本的血小板浓度与流式细胞仪参考方法所得的结果密切相关，其相关系数 R^2 为 0.9940。由于异常血液样本中所存在的红细胞碎片、小红细胞或大血小板而给常规阻抗方法检测带来的误差，可以通过本实施例中的融合血小板直方图 $H_{\text{Plt-LD}}$ 进行有效地校正。

[0127] 实施例 2

[0128] 在 BC-6800 血液分析仪对从第一和第二悬浮液的检测中所收集的数据,如实施例 1 中所述,被进一步分析以使用融合血小板直方图 $H_{Plt-LDa}$ 的方法确定各血液样本的血小板浓度。

[0129] 更具体地,与实施例 1 相同,对该第一悬浮液的 DC 阻抗信号检测所收集到的数据进行分析生成血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 。对该第二悬浮液的前向光散射信号和荧光信号检测所收集到的数据进行分析以在 SFL-FSC 散点图中区分血小板区域 P 与白细胞区域 W。用方程式(1)得到衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 与衍生血小板体积。然后,通过本公开的方法中方程式(6)和方程式(7)所设定的判据生成的融合血小板直方图 $H_{Plt-LDa}$ 。基于该融合血小板直方图 $H_{Plt-LDa}$ 中曲线下方的面积确定该血液样本的血小板浓度。

[0130] 在本实施例中所分析的血液样本与实施例 1 中所使用的 25 个血液样本相同。图 18 示出了本实施例中所获得的这些血液样本的血小板浓度与实施例 1 中使用流式细胞仪参考方法所得的结果的相关性。如图所示,使用本实施例中所描述的方法得到的血液样本的血小板浓度与流式细胞仪参考方法所得的结果密切相关,其相关系数 R^2 为 0.9739。

[0131] 实施例 3

[0132] 在 BC-6800 血液分析仪对从第一和第二悬浮液的检测中所收集的数据,如实施例 1 中所述,被进一步分析以使用融合血小板直方图 $H_{Plt-LDb}$ 的方法确定血液样本的血小板浓度。

[0133] 更具体地,对该第一悬浮液的 DC 阻抗信号检测所收集到的数据进行分析生成血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 。对该第二悬浮液的前向光散射信号和荧光信号检测所收集到的数据进行分析以在 SFL-FSC 散点图中区分血小板区域 P 与白细胞区域 W。在本实施例中,用方程式(8)所设定的曲线拟合过程用血小板区域 P 的光散射信号生成衍生血小板体积直方图 H_{Plt-Lb} 。然后,依照方程式(9)和方程式(10)所设定的判据生成融合血小板直方图 $H_{Plt-LDb}$ 。基于该融合血小板直方图 $H_{Plt-LDb}$ 中曲线下方的面积确定该血液样本的血小板浓度。

[0134] 在本实施例中所分析的血液样本与实施例 1 中所使用的 25 个血液样本相同。图 19 示出了本实施例中所获得的这些血液样本的血小板浓度与实施例 1 中使用流式细胞仪参考方法所得的结果的相关性。如图所示,使用本实施例中所描述的方法得到的血液样本的血小板浓度与流式细胞仪参考方法所得的结果密切相关,其相关系数 R^2 为 0.9681。

[0135] 实施例 4

[0136] 在 BC-6800 血液分析仪对从第一和第二悬浮液的检测中所收集的数据,如实施例 1 中所述,被进一步分析以使用方程式(11)和方程式(12)及所述融合判据确定血液样本的血小板浓度。

[0137] 更具体地,对该第一悬浮液的 DC 阻抗信号检测所收集到的数据进行分析生成血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 。对该第二悬浮液的前向光散射信号和荧光信号检测所收集到的数据进行分析以在 SFL-FSC 散点图中区分血小板区域 P 与白细胞区域 W。用方程式(1)得到衍生血小板体积直方图 H_{Plt-L} 与衍生血小板体积。然后,通过本公开的方法中方程式(11)和方程式(12)基于所述融合判据计算血液样本的血小板浓度。

[0138] 在本实施例中所分析的血液样本与实施例 1 中所使用的 25 个血液样本相同。图 20 示出了本实施例中所获得的这些血液样本的血小板浓度与实施例 1 中使用流式细胞仪参考方法所得的结果的相关性。如图所示,使用本实施例中所描述的方法得到的血液样本的血小板浓度与流式细胞仪参考方法所得的结果密切

相关，其相关系数 R^2 为 0.9797。

[0139] 实施例 5

[0140] 在 BC-6800 血液分析仪对从第一和第二悬浮液的检测中所收集的数据，如实施例 1 中所述，被用上述一实施方式中所述方法进一步分析。

[0141] 更具体地，与实施例 1 相同，对该第一悬浮液的 DC 阻抗信号检测所收集到的数据进行分析生成血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} ，如图 9B 和 10B 中所示，并确定该血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 的血小板谷峰比 $R_{v/p}$ 。对该第二悬浮液的前向光散射信号和荧光信号检测所收集到的数据进行分析以在 SFL-FSC 散点图中区分血小板区域 P 与白细胞区域 W，并进一步确定指定区域 P_G 中的事件数 N。然后，依照方程式(13)-(15)及偏移量判据确定衍生分隔阈值 T_d 。所得的衍生分隔阈值 T_d 被用于在血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 区分血小板与红细胞，如图 9C 和 10C 中所示，并基于该血小板 DC 直方图中该衍生分隔阈值 T_d 所确定的血小板群体的曲线下方的面积计算该血液样本的血小板浓度。

[0142] 在本实施例中所分析的血液样本与实施例 1 中所使用的 25 个血液样本相同。图 21 示出了本实施例中所得的这些血液样本的血小板浓度与实施例 1 中使用流式细胞仪参考方法所得的结果的相关性。如图所示，使用本实施例中所描述的方法得到的血液样本的血小板浓度与流式细胞仪参考方法所得的结果密切相关，其相关系数 R^2 为 0.9937。与上述其他实施例相同，本实施例的方法能够有效地校正常规 DC 阻抗方法对存在红细胞碎片、小红细胞或大血小板的异常血液样本的血小板检测结果的实质性误差。

[0143] 实施例 6

[0144] 使用商业血液分析仪 BC-6800（深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司，中国深圳）测量一份含有有核红细胞的全血样本，并且对从第一和第二悬浮液获取的数据采用前述一实施方式的方法进行分析。

[0145] BC-6800 血液分析仪包括 CBC 模块和分类模块。该 CBC 模块包括一混合室和 DC 阻抗检测器，该混合室被设置用于将血液样本的份试样与稀释液混合以形成第一悬浮液，该 DC 阻抗检测器被设置用于测量流过流通过径的小孔的该第一悬浮液的 DC 阻抗信号。该分类模块为有核红细胞分类模块，包括另一混合室、红外半导体激光器和多个光学检测器，该混合室被设置用于将血液样本的另一份试样与溶血剂及荧光染料混合以形成第二悬浮液，该红外半导体激光器作为光源具有 640nm 的发射波长并将其发射的光束对准光学流动室的检测孔，多个光学检测器能够检测通过该光学流动室的检测孔的第二悬浮液的从与入射光束约 1° 至约 10° 的角度上的前向光散射信号、从与入射光束约 65° 至约 115° 的角度上的侧向光散射信号及荧光信号。

[0146] 在该 CBC 模块中，4 μ L 抗凝全血样本被与 1.5 mL M-68DS 稀释液（为深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司的产品，中国深圳）混合，形成第一悬浮液。在该分类模块中，20 μ L 相同的全血样本被与 1 mL M-68LNLyse 和 20 μ L M-68FN 染料（均为深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司的产品，中国深圳）以溶解红细胞并染色有核酸物质的血细胞，形成第二悬浮液。该 M-68LN Lyse 为含有阳离子表面活性剂和阴离子化合物的水溶液，用于溶解血液样本中的红细胞的。该 M-68FN 染料为含有阳离子花菁化合物的水溶液，用于染色血液样本中的有核酸物质的血细胞。

[0147] 对该第一悬浮液的 DC 阻抗信号检测所收集到的数据进行分析,生成如图 1 所示的血小板 DC 直方图 H_{Plt-D} 。对该第二悬浮液的前向光散射信号和荧光信号检测所收集到的数据进行分析以在如图 22 所示的 SSC-FSC 散点图中区分血小板区域 P 与白细胞区域 W。在该实施例中,基于该血小板区域 P 中的血小板的前向光散射信号用方程式(1)计算衍生血小板体积。可以得到如图 22 所示的衍生血小板体积直方图 H_{Plt-N} 。然后,依照上述方程式(3)生成融合血小板直方图 H_{Plt-ND} 。在该实施例中,方程式(3)中的 k_{I1} 和 k_{I2} 是常数,其中,当 $Vol_p(i) > 20$ fL 时, $k_{I1} = 1, k_{I2} = 0$; 当 $Vol_p(i) \leq 20$ fL 时, $k_{I1} = 0, k_{I2} = 1$ 。基于该融合血小板直方图 H_{Plt-ND} 中曲线下方的面积确定该血液样本的血小板浓度。

[0148] 如图 26 该份样本的第二悬浮液的光散射和荧光信号可以识别出有核红细胞和白细胞,进行有核红细胞和白细胞计数。

[0149] 经人工镜检确认为红细胞碎片样本,以流式细胞分析仪检测结果得到参考值,其检测结果为 $86 \times 10^9/L$, 阻抗法获得的血小板计数结果为 $110 \times 10^9/L$, 本文技术获得的血小板计数结果为 $91 \times 10^9/L$, 与参考值更接近。

[0150] 实施例 7

[0151] 使用商业血液分析仪 BC-6800 (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司, 中国深圳) 测量一份含有有核红细胞的全血样本, 并且对从第一和第二悬浮液获取的数据采用前述一实施方式的方法进行分析。

[0152] BC-6800 血液分析仪包括 CBC 模块和分类模块。该 CBC 模块包括一混合室和 DC 阻抗检测器, 该混合室被设置用于将血液样本的份试样与稀释液混合以形成第一悬浮液, 该 DC 阻抗检测器被设置用于测量流过流通路径的小孔的该第一悬浮液的 DC 阻抗信号。该分类模块为有核红细胞分类模块, 包括另一混合室、红外半导体激光器和多个光学检测器, 该混合室被设置用于将血液样本的另一份试样与溶血剂及荧光染料混合以形成第二悬浮液, 该红外半导体激光器作为光源具有 640 nm 的发射波长并将其发射的光束对准光学流动室的检测孔, 多个光学检测器能够检测通过该光学流动室的检测孔的第二悬浮液的从与入射光束约 1° 至约 10° 的角度上的前向光散射信号、从与入射光束约 65° 至约 115° 的角度上的侧向光散射信号及荧光信号。

[0153] 在该 CBC 模块中, $4 \mu L$ 抗凝全血样本被与 $1.5 mL$ M-68DS 稀释液 (为深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司的产品, 中国深圳) 混合, 形成第一悬浮液。在该分类模块中, $20 \mu L$ 相同的全血样本被与 $1 mL$ M-68LN Lyse 和 $20 \mu L$ M-68FN 染料 (均为深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司的产品, 中国深圳) 以溶解红细胞并染色有核酸物质的血细胞, 形成第二悬浮液。该 M-68LN Lyse 为含有阳离子表面活性剂和阴离子化合物的水溶液, 用于溶解血液样本中的红细胞的。该 M-68FN 染料为含有阳离子花菁化合物的水溶液, 用于染色血液样本中的有核酸物质的血细胞。

[0154] 对该第一悬浮液的 DC 阻抗信号检测所收集到的数据进行分析生成血小板 DC 直方图 $HPlt-D$, 如图 25B 中所示, 并确定该血小板 DC 直方图 $HPlt-D$ 的血小板谷峰比 $R_{v/p}$ 。对该第二悬浮液的前向光散射信号和荧光信号检测所收集到的数据进行分析以在 FSC-SSC 散点图中区分血小板区域 P 与白细胞区域 W, 并进一步确定指定区域 PG 中的事件数 N。然后, 依照方程式(13)-(15)及偏移量判据确定衍生分隔阈值 T_d 。

所得的衍生分隔阈值 Td 被用于在血小板 DC 直方图 HPlt-D 区分血小板与红细胞。本实施中, PG 中的事件数 N 正常, 该衍生分隔阈值 Td 相对于该表观分隔阈值 Tap 向左偏移, 如图 25C 中所示, 基于该血小板 DC 直方图中该衍生分隔阈值 Td 所确定的血小板群体的曲线下方的面积计算该血液样本的血小板浓度。

[0155] 经人工镜检确认为红细胞碎片样本, 以流式细胞分析仪检测结果得到参考值, 其检测结果为 $86 \times 10^9/L$, 阻抗法获得的血小板计数结果为 $110 \times 10^9/L$, 本文技术获得的血小板计数结果为 $95 \times 10^9/L$, 与参考值更接近。

[0156] 上文中结合附图对本公开进行详细的描述, 但这些内容仅是示范性的实施方式, 并不应被解释为对本公开保护范围的限制。显而易见地, 在本公开保护范围内所做出的任何修改和变化仍属于本公开的说明书所披露和权利要求所限定的范围, 具有同等的法律效应。

权利要求书

1. 一种测定血液样本中血小板浓度的方法，包括：

将所述血液样本的第一份与稀释液混合，形成第一悬浮液；

将所述血液样本的第二份与溶血剂和荧光染料混合以溶解红细胞和染色白细胞，形成第二悬浮液；

测量所述第一悬浮液流过小孔的直流阻抗信号；

测量所述第二悬浮液流过光学流动室的光散射信号和荧光信号；

分析所述第一悬浮液的所述直流阻抗信号以获取第一血小板分布；

分析所述第二悬浮液的所述光散射信号和所述荧光信号以区别血小板与白细胞和/或有核红细胞并获取第二血小板分布；以及

基于所述第一血小板分布和所述第二血小板分布确定所述血液样本的血小板浓度。

2. 如权利要求1所述的方法，其特征在于，所述区别血小板与白细胞和/或有核红细胞包括在由所述第二悬浮液所得的光散射和荧光散点图中区分血小板区域与白细胞区域和/或有核红细胞区域。

3. 如权利要求2所述的方法，其特征在于，所述第一血小板分布为由所述第一悬浮液所得的血小板直流阻抗直方图。

4. 如权利要求3所述的方法，其特征在于，所述第二血小板分布为利用所述血小板区域的血小板的光散射信号生成的衍生血小板体积直方图。

5. 如权利要求4所述的方法，其特征在于，所述确定所述血液样本的血小板浓度的步骤包括用由所述第一悬浮液所得的所述血小板直流阻抗直方图和由所述第二悬浮液所得的所述衍生血小板体积直方图生成融合血小板直方图，基于所述融合血小板直方图获取血小板浓度。

6. 如权利要求5所述的方法，其特征在于，进一步包括向用户显示所述血小板浓度、由所述第一悬浮液所得的血小板直流阻抗直方图、由所述第二悬浮液所得的所述衍生血小板体积直方图、所述融合血小板直方图、由所述第一悬浮液所得的血小板直流阻抗直方图与由所述第二悬浮液所得的所述衍生血小板体积直方图的叠加图、由所述第一悬浮液所得的血小板直流阻抗直方图与所述融合血小板直方图的叠加图、由所述第二悬浮液所得的所述光散射和荧光散点图的所述血小板区域、或其组合。

7. 如权利要求3所述的方法，其特征在于，所述第二血小板分布是由所述第二悬浮液所得的前向光散射和荧光散点图中一血小板区域中血小板的二维分布。

8. 如权利要求7所述的方法，其特征在于，所述确定所述血液样本的血小板浓度的步骤包括：

确定所述第一悬浮液的所述血小板直流阻抗直方图的血小板谷峰比；

确定由所述第二悬浮液所得的所述前向光散射和荧光散点图的所述血小板区域中一指定区域的事件数；

基于所述血小板谷峰比和所述指定区域的事件数确定所述血小板直流阻抗直方图中血小板与红细胞之间波谷的衍生分隔阈值；以及

利用所述衍生分隔阈值区分所述血小板直流阻抗直方图中的血小板与红细胞，获取所述血液样本的血小板浓度。

9. 如权利要求 8 所述的方法，其特征在于，进一步包括向用户显示所述血小板浓度、由所述第二悬浮液所得的所述前向光散射和荧光散点图中所述血小板区域、所述血小板区域中的所述指定区域、所述指定区域的事件数、由所述第一悬浮液所得的所述血小板直流阻抗直方图中所述血小板谷峰比、具有所述衍生分隔阈值的由所述第一悬浮液所得的血小板直流阻抗直方图、或其组合。

10. 如权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述确定所述血液样本的血小板浓度的步骤包括：基于所述第一血小板分布和所述第二血小板分布生成第三血小板分布，基于所述第三血小板分布获取血小板浓度。

11. 如权利要求 1 所述的方法，其特征在于，进一步包括基于所述第二悬浮液的所述光散射信号和所述荧光信号将所述血液样本中的白细胞区分为白细胞的亚群，优选的，所述将所述血液样本中的白细胞区分为白细胞的亚群包括：

区分单核细胞、淋巴细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞；或

区分嗜碱性粒细胞。

12. 如权利要求 1 所述的方法，其特征在于，

进一步包括对所述第二悬浮液进行所述血液样本的白细胞计数；或

识别所述第二悬浮液中的有核红细胞或未成熟白细胞。

13. 一种用于测定血液样本中血小板浓度的血液分析系统，包括：

第一模块，所述第一模块包括第一混合室和直流阻抗检测器，所述第一混合室用于将所述血液样本的第一份与稀释液混合以形成第一悬浮液，所述直流阻抗检测器被装配于流通过径的小孔，所述流通过径与所述第一混合室相连通，所述直流阻抗检测器用于检测所述第一悬浮液通过所述小孔的直流阻抗信号；

第二模块，包括第二混合室、光源及至少一光学检测器，所述第二混合室用于将所述血液样本的第二份与溶血剂及荧光染料混合、溶解红细胞并染色白细胞以形成第二悬浮液，所述光源用于将光束对准与所述第二混合室相连通的光学流动室的检测孔，所述至少一光学检测器被装配于所述光学流动室用于检测通过所述光学流动室的所述检测孔的所述第二悬浮液的光散射信号和荧光信号；以及

数据处理模块，与所述第一模块的所述直流阻抗检测器和所述第二模块中的所述至少一光学检测器分别可操作地连接，所述数据处理模块包括处理器和编程有计算机应用程序的非暂时性计算机可读存储介质，当所述计算机应用程序被所述处理器执行时，使所述处理器基于所述第一悬浮液的所述直流阻抗信号生成第一血小板分布，基于所述第二悬浮液的所述光散射信号和所述荧光信号区分血小板与白细胞和/或有核红细胞、生成第二血小板分布，基于所述第一血小板分布和所述第二血小板分布确定所述血液样本的血小板浓度。

14. 如权利要求 13 所述的血液分析系统，其特征在于，所述第一血小板分布为由所述第一悬浮液所得的血小板直流阻抗直方图，所述第二血小板分布为基于所述第二悬浮液所得的光散射和荧光散点图中一血

小板区域的血小板的光散射信号生成的衍生血小板体积直方图。

15. 如权利要求 14 所述的血液分析系统，其特征在于，当所述数据处理模块的所述计算机应用程序被所述处理器执行时，使所述处理器用由所述第一悬浮液所得的血小板直流阻抗直方图和由所述第二悬浮液所得的所述衍生血小板体积直方图生成融合血小板直方图，基于所述融合血小板直方图获取血小板浓度。

16. 如权利要求 15 所述的血液分析系统，其特征在于，进一步包括用户界面，所述用户界面可操作地与所述数据处理模块相连并用于显示所述血小板浓度、由所述第一悬浮液所得的血小板直流阻抗直方图、由所述第二悬浮液所得的所述衍生血小板体积直方图、所述融合血小板直方图、由所述第一悬浮液所得的血小板直流阻抗直方图与由所述第二悬浮液所得的所述衍生血小板体积直方图的叠加图、由所述第一悬浮液所得的血小板直流阻抗直方图与所述融合血小板直方图的叠加图、由所述第二悬浮液所得的所述光散射和荧光散点图的所述血小板区域、或其组合。

17. 如权利要求 13 所述的血液分析系统，其特征在于，所述第一血小板分布为由所述第一悬浮液所得的血小板直流阻抗直方图，所述第二血小板分布是由所述第二悬浮液所得的前向光散射和荧光散点图中一血小板区域中血小板的二维分布。

18. 如权利要求 17 所述的血液分析系统，其特征在于，当所述数据处理模块的所述计算机应用程序被所述处理器执行时，使所述处理器

确定所述第一悬浮液的所述血小板直流阻抗直方图的血小板谷峰比；

确定由所述第二悬浮液所得的所述前向光散射和荧光散点图的所述血小板区域中一指定区域的事件数；

基于所述血小板谷峰比和所述指定区域的事件数确定所述血小板直流阻抗直方图中血小板与红细胞之间波谷的衍生分隔阈值；以及

利用所述衍生分隔阈值区分所述血小板直流阻抗直方图中的血小板与红细胞，获取所述血液样本的血小板浓度。

19. 如权利要求 13 所述的血液分析系统，其特征在于，所述确定所述血液样本的血小板浓度的步骤包括：基于所述第一血小板分布和所述第二血小板分布生成第三血小板分布，基于所述第三血小板分布获取血小板浓度。

20. 如权利要求 13 所述的血液分析系统，其特征在于，当所述数据处理模块的所述计算机应用程序被所述处理器执行时，使所述处理器基于所述第二悬浮液的所述光散射信号和所述荧光信号将所述血液样本中的白细胞区分为白细胞的亚群，优选的，所述将所述血液样本中的白细胞区分为白细胞的亚群包括：

区分单核细胞、淋巴细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞；或

区分嗜碱性粒细胞。

21. 如权利要求 13 所述的血液分析系统，其特征在于，

进一步包括对所述第二悬浮液进行所述血液样本的白细胞计数；或

识别所述第二悬浮液中的有核红细胞或未成熟白细胞。

22. 一种测定血液样本中血小板浓度的方法，包括：

将所述血液样本的第一份与稀释液混合，形成第一悬浮液；

将所述血液样本的第二份与溶血剂混合以溶解红细胞，形成第二悬浮液；

测量所述第一悬浮液流过小孔的直流阻抗信号；

测量所述第二悬浮液流过光学流动室的前向光散射信号与侧向光散射信号或中角度光散射信号；

分析所述第一悬浮液的所述直流阻抗信号以获取第一血小板分布；

分析所述第二悬浮液的所述前向光散射信号与所述侧向光散射信号或所述中角度光散射信号以区分血小板和白细胞并获取第二血小板分布；以及

基于所述第一血小板分布和所述第二血小板分布确定所述血液样本的血小板浓度。

23. 如权利要求 22 所述的方法，其特征在于，所述区分血小板和白细胞包括在由所述第二悬浮液所得的前向光散射信号和侧向光散射信号散点图或前向光散射信号和中角度光散射信号散点图中区分血小板区域和白细胞区域。

24. 如权利要求 23 所述的方法，其特征在于，所述第一血小板分布为由所述第一悬浮液所得的血小板直流阻抗直方图。

25. 如权利要求 24 所述的方法，其特征在于，所述第二血小板分布为利用所述血小板区域的血小板的光散射信号生成的衍生血小板体积直方图。

26. 如权利要求 25 所述的方法，其特征在于，所述确定所述血液样本的血小板浓度的步骤包括用由所述第一悬浮液所得的所述血小板直流阻抗直方图和由所述第二悬浮液所得的所述衍生血小板体积直方图生成融合血小板直方图，基于所述融合血小板直方图获取血小板浓度。

27. 如权利要求 24 所述的方法，其特征在于，所述第二血小板分布是由所述第二悬浮液所得的所述前向光散射信号和侧向光散射信号散点图或所述前向光散射信号和中角度光散射信号散点图中一血小板区域中血小板的二维分布。

28. 如权利要求 27 所述的方法，其特征在于，所述确定所述血液样本的血小板浓度的步骤包括：

确定所述第一悬浮液的所述血小板直流阻抗直方图的血小板谷峰比；

确定由所述第二悬浮液所得的所述前向光散射信号和侧向光散射信号散点图或所述前向光散射信号和中角度光散射信号散点图的所述血小板区域中一指定区域的事件数；

基于所述血小板谷峰比和所述指定区域的事件数确定所述血小板直流阻抗直方图中血小板与红细胞之间波谷的衍生分隔阈值；以及

利用所述衍生分隔阈值区分所述血小板直流阻抗直方图中的血小板与红细胞，获取所述血液样本的血小板浓度。

29. 如权利要求 22 所述的方法，其特征在于，所述确定所述血液样本的血小板浓度的步骤包括：基于

所述第一血小板分布和所述第二血小板分布生成第三血小板分布，基于所述第三血小板分布获取血小板浓度。

30. 如权利要求 22 所述的方法，其特征在于，进一步包括基于所述第二悬浮液的所述光散射信号将所述血液样本中的白细胞区分为白细胞的亚群。

31. 如权利要求 30 所述的方法，其特征在于，所述将所述血液样本中的白细胞区分为白细胞的亚群包括：

区分单核细胞、淋巴细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞；或

区分嗜碱性粒细胞；或

对所述第二悬浮液进行所述血液样本的白细胞计数。

32. 一种用于测定血液样本中血小板浓度的血液分析系统，包括：

第一模块，所述第一模块包括第一混合室和直流阻抗检测器，所述第一混合室用于将所述血液样本的第一份与稀释液混合以形成第一悬浮液，所述直流阻抗检测器被装配于流通过径的小孔，所述流通过径与所述第一混合室相连通，所述直流阻抗检测器用于检测所述第一悬浮液通过所述小孔的直流阻抗信号；

第二模块，包括第二混合室、光源及至少一光学检测器，所述第二混合室用于将所述血液样本的第二份与溶血剂混合、溶解红细胞以形成第二悬浮液，所述光源用于将光束对准与所述第二混合室相连通的光学流动室的检测孔，所述至少一光学检测器被装配于所述光学流动室用于检测通过所述光学流动室的所述检测孔的所述第二悬浮液的前向光散射信号和侧向光散射信号或中角度光散射信号；以及

数据处理模块，与所述第一模块的所述直流阻抗检测器和所述第二模块中的所述至少一光学检测器分别可操作地连接，所述数据处理模块包括处理器和编程有计算机应用程序的非暂时性计算机可读存储介质，当所述计算机应用程序被所述处理器执行时，使所述处理器基于所述第一悬浮液的所述直流阻抗信号生成第一血小板分布，基于所述第二悬浮液的所述光散射信号和所述侧向光散射信号或所述中角度光散射信号区分血小板与白细胞、生成第二血小板分布，基于所述第一血小板分布和所述第二血小板分布确定所述血液样本的血小板浓度。

33. 如权利要求 32 所述的血液分析系统，其特征在于，所述第一血小板分布为由所述第一悬浮液所得的血小板直流阻抗直方图。

34. 如权利要求 33 所述的血液分析系统，其特征在于，所述第二血小板分布为基于所述第二悬浮液所得的前向光散射信号和侧向光散射信号散点图或前向光散射信号和中角度光散射信号散点图中一血小板区域的光散射信号生成的衍生血小板体积直方图。

35. 如权利要求 34 所述的血液分析系统，其特征在于，当所述数据处理模块的所述计算机应用程序被所述处理器执行时，使所述处理器用由所述第一悬浮液所得的血小板直流阻抗直方图和由所述第二悬浮液所得的所述衍生血小板体积直方图生成融合血小板直方图，基于所述融合血小板直方图获取血小板浓度。

36. 如权利要求 33 所述的血液分析系统，其特征在于，所述第二血小板分布是由所述第二悬浮液所得

的前向光散射信号和侧向光散射信号散点图或前向光散射信号和中角度光散射信号散点图中一血小板区域中血小板的二维分布。

37. 如权利要求 36 所述的血液分析系统，其特征在于，当所述数据处理模块的所述计算机应用程序被所述处理器执行时，使所述处理器

确定所述第一悬浮液的所述血小板直流阻抗直方图的血小板谷峰比；

确定由所述第二悬浮液所得的所述前向光散射信号和侧向光散射信号散点图或所述前向光散射信号和中角度光散射信号散点图的所述血小板区域中一指定区域的事件数；

基于所述血小板谷峰比和所述指定区域的事件数确定所述血小板直流阻抗直方图中血小板与红细胞之间波谷的衍生分隔阈值；以及

利用所述衍生分隔阈值区分所述血小板直流阻抗直方图中的血小板与红细胞，获取所述血液样本的血小板浓度。

38. 如权利要求 32 所述的血液分析系统，其特征在于，所述确定所述血液样本的血小板浓度的步骤包括：基于所述第一血小板分布和所述第二血小板分布生成第三血小板分布，基于所述第三血小板分布获取血小板浓度。

39. 如权利要求 32 所述的血液分析系统，其特征在于，当所述数据处理模块的所述计算机应用程序被所述处理器执行时，使所述处理器基于所述第二悬浮液的所述光散射信号将所述血液样本中的白细胞区分为白细胞的亚群。

40. 如权利要求 32 所述的血液分析系统，其特征在于，当所述数据处理模块的所述计算机应用程序被所述处理器执行时，使所述处理器基于所述第二悬浮液的所述光散射信号将所述血液样本中的白细胞区分单核细胞、淋巴细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞或区分嗜碱性粒细胞；或者

对所述第二悬浮液进行所述血液样本的白细胞计数。

41. 一种分析血液样本的方法，包括：

获取所述血液样本的第一悬浮液的直流阻抗信号；

获取所述血液样本的第二悬浮液的至少两种光学信号，所述至少两种光学信号包括前向光散射信号和用于提供细胞内容物信息的第一光学信号；

基于所述直流阻抗信号获取第一血小板分布；

基于所述至少两种光学信号获取第二血小板分布；及

基于所述第一血小板分布和所述第二血小板分布获取第三血小板分布；

所述第一悬浮液由所述血液样本的第一份与稀释液混合后形成，所述第二悬浮液由所述血液样本的第二份与一处理试剂混合后形成，所述处理试剂包括溶血剂以溶解所述血液样本的第二份中的红细胞。

42. 如权利要求 41 所述的分析血液样本的方法，其特征在于，进一步包括：输出所述第一血小板分布、

第二血小板分布和第三血小板分布中的至少一种。

43. 如权利要求 41 所述的分析血液样本的方法，其特征在于，所述获取第二血小板分布的步骤包括：基于所述至少两种光学信号得到所述第二悬浮液的散点图；及在所述散点图中将血小板与白细胞和/或有核红细胞区分开，得到血小板区域。

44. 如权利要求 43 所述的分析血液样本的方法，其特征在于，所述获取第二血小板分布的步骤还包括：基于所述血小板区域的散射光学信号获取所述血液样本的衍生血小板体积直方图。

45. 如权利要求 44 所述的分析血液样本的方法，其特征在于，所述第一血小板分布包括所述血液样本的血小板直流阻抗直方图；所述获取第三血小板分布的步骤包括：基于所述血小板直流阻抗直方图和所述衍生血小板体积直方图，根据一预设条件获取融合血小板直方图。

46. 如权利要求 45 所述的分析血液样本的方法，其特征在于，所述获取第三血小板分布的步骤还包括：基于所述融合血小板直方图获取所述血液样本的血小板分析数据，所述血小板分析数据选自血小板计数、平均血小板体积及血小板体积分布宽度中的一种或几种。

47. 如权利要求 46 所述的分析血液样本的方法，其特征在于，进一步包括：显示所述血小板区域、所述衍生血小板体积直方图、所述血小板直流阻抗直方图和所述衍生血小板体积直方图的叠加图、所述融合血小板直方图、所述血小板直流阻抗直方图和所述融合血小板直方图的叠加图、所述血小板分析数据中的至少一种。

48. 如权利要求 43 所述的分析血液样本的方法，其特征在于，所述获取第二血小板分布的步骤还包括：获取所述血小板区域中一指定区域的事件数。

49. 如权利要求 48 所述的分析血液样本的方法，其特征在于，所述第一血小板分布包括所述血液样本的血小板直流阻抗直方图；所述获取第三血小板分布的步骤包括：

确定所述血小板直流阻抗直方图的血小板谷峰比；及

基于所述血小板谷峰比和所述指定区域的事件数确定一衍生分隔阈值，在所述血小板直流阻抗直方图中利用所述衍生分隔阈值区分血小板与红细胞，获取所述血液样本的血小板分析数据，所述血小板分析数据选自血小板计数、平均血小板体积及血小板分布宽度中的一种或几种。

50. 如权利要求 49 所述的分析血液样本的方法，其特征在于，进一步包括：显示所述血小板区域、所述指定区域、所述血小板谷峰比、包括所述衍生分隔阈值的所述血小板直流阻抗直方图、所述血小板分析数据中的至少一种。

51. 如权利要求 41-50 中任一项所述的分析血液样本的方法，其特征在于，所述第一光学信号选自侧向光散射信号和中角度光散射信号中的至少一种。

52. 如权利要求 41-50 任一项所述的分析血液样本的方法，其特征在于，所述处理试剂还包括用于染色白细胞的荧光染料，所述第一光学信号选自荧光信号、侧向光散射信号和中角度光散射信号中的至少一种。

53. 如权利要求 51 或 52 所述的分析血液样本的方法，其特征在于，进一步包括：基于所述第二悬浮液

的所述至少两种光学信号将所述血液样本中的白细胞区分为白细胞的亚群。

54. 如权利要求 51 或 52 所述的分析血液样本的方法，其特征在于，基于所述第二悬浮液的所述至少两种光学信号将所述血液样本中的白细胞区分单核细胞、淋巴细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞或区分嗜碱性粒细胞；或者

对所述第二悬浮液进行所述血液样本的白细胞计数；或者

识别所述第二悬浮液中的有核红细胞或未成熟白细胞。

55. 一种非易失性计算机可读存储介质，其上存储有计算机应用程序，其特征在于：所述计算机应用程序被处理器执行时实现如权利要求 41-54 中任一项所述的分析血液样本的方法的步骤。

56. 一种血液分析系统，包括：

第一模块，所述第一模块包括第一混合室和直流阻抗检测器，所述第一混合室用于将所述血液样本的第一份与稀释液混合以形成第一悬浮液，所述直流阻抗检测器被装配于流通过程的小孔，所述流通过程与所述第一混合室相通，所述直流阻抗检测器用于检测所述第一悬浮液通过所述小孔的直流阻抗信号；

第二模块，所述第二模块包括第二混合室、光源及至少一光学检测器，所述第二混合室用于将所述血液样本的第二份与一处理试剂混合以形成第二悬浮液，所述处理试剂包括溶血剂以溶解所述血液样本的第二份中的红细胞，所述光源用于将光束对准与所述第二混合室相通的光学流动室的检测孔，所述至少一光学检测器被装配于所述光学流动室用于检测通过所述光学流动室的所述检测孔的所述第二悬浮液的至少两种光学信号，所述至少两种光学信号包括前向光散射信号和用于提供细胞内容物信息的第一光学信号；以及

数据处理模块，与所述第一模块的所述直流阻抗检测器和所述第二模块中的所述至少一光学检测器分别可操作地连接，所述数据处理模块包括处理器和编程有计算机应用程序的非暂时性计算机可读存储介质，当所述计算机应用程序被所述处理器执行时，所述数据处理模块基于所述直流阻抗信号获取第一血小板分布，基于所述至少两种光学信号获取第二血小板分布，基于所述第一血小板分布和所述第二血小板分布获取所述血液样本的第三血小板分布。

57. 如权利要求 56 所述的血液分析系统，其特征在于，进一步包括用户界面，所述用户界面可操作地与所述数据处理模块相连并用于输出所述第一血小板分布、第二血小板分布和第三血小板分布中的至少一种。

58. 如权利要求 56 所述的血液分析系统，其特征在于，所述数据处理模块获取第二血小板分布的步骤包括：

基于所述至少两种光学信号得到所述第二悬浮液的散点图；及

在所述散点图中将血小板与白细胞区分开，得到血小板区域。

59. 如权利要求 58 所述的血液分析系统，其特征在于，所述数据处理模块获取第二血小板分布的步骤还包括：基于所述血小板区域的所述至少两种光学信号获取所述血液样本的衍生血小板体积直方图。

60. 如权利要求 59 所述的血液分析系统，其特征在于，所述第一血小板分布包括所述血液样本的血小板直流阻抗直方图；所述数据处理模块获取第三血小板分布的步骤包括：基于所述血小板直流阻抗直方图和所述衍生血小板体积直方图，根据一预设条件获取融合血小板直方图。

61. 如权利要求 60 所述的血液分析系统，其特征在于，所述数据处理模块获取第三血小板分布的步骤还包括：基于所述融合血小板直方图获取所述血液样本的血小板分析数据，所述血小板分析数据选自血小板计数、平均血小板体积及血小板体积分布宽度中的一种或几种。

62. 如权利要求 61 所述的血液分析系统，其特征在于，进一步包括用户界面，所述用户界面可操作地与所述数据处理模块相连并用于显示所述血小板区域、所述衍生血小板体积直方图、所述血小板直流阻抗直方图和所述衍生血小板体积直方图的叠加图、所述融合血小板直方图、所述血小板直流阻抗直方图和所述融合血小板直方图的叠加图、所述血小板分析数据中的至少一种。

63. 如权利要求 58 所述的血液分析系统，其特征在于，所述获取第二血小板分布的步骤还包括：获取所述血小板区域中一指定区域的事件数。

64. 如权利要求 63 所述的血液分析系统，其特征在于，所述第一血小板分布包括所述血液样本的血小板直流阻抗直方图；所述获取第三血小板分布的步骤包括：

确定所述血小板直流阻抗直方图的血小板谷峰比；及

基于所述血小板谷峰比和所述指定区域的事件数确定一衍生分隔阈值，在所述血小板直流阻抗直方图中利用所述衍生分隔阈值区分血小板与红细胞，获取所述血液样本的血小板分析数据，所述血小板分析数据选自血小板计数、平均血小板体积及血小板体积分布宽度中的一种或几种。

65. 如权利要求 64 所述的血液分析系统，其特征在于，进一步包括用户界面，所述用户界面可操作地与所述数据处理模块相连并用于显示所述血小板区域、所述指定区域、所述血小板谷峰比、包括所述衍生分隔阈值的所述血小板直流阻抗直方图、所述血小板分析数据中的至少一种。

66. 如权利要求 56-65 中任一项所述的血液分析系统，其特征在于，所述第一光学信号选自侧向光散射信号和中角度光散射信号中的至少一种。

67. 如权利要求 56-65 任一项所述的血液分析系统，其特征在于，所述处理试剂还包括用于染色白细胞的荧光染料，所述第一光学信号选自荧光信号、侧向光散射信号和中角度光散射信号中的至少一种。

68. 如权利要求 67 所述的血液分析系统，其特征在于，进一步包括：基于所述第二悬浮液的所述至少两种光学信号将所述血液样本中的白细胞区分为白细胞的亚群，优选的，所述将所述血液样本中的白细胞区分为白细胞的亚群的步骤包括：

区分单核细胞、淋巴细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞；或区分嗜碱性粒细胞。

69. 如权利要求 68 所述的血液分析系统，其特征在于，

进一步包括对所述第二悬浮液进行所述血液样本的白细胞计数；或识别所述第二悬浮液中的有核红细胞或未成熟白细胞。

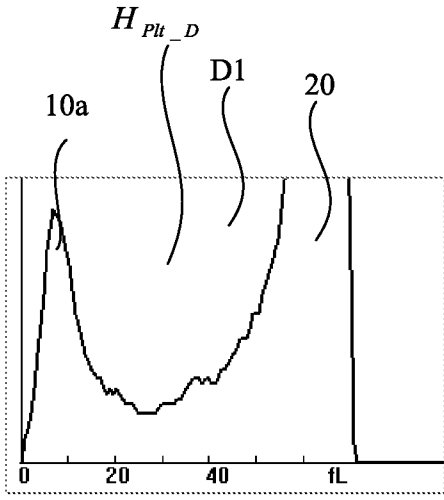


图 1

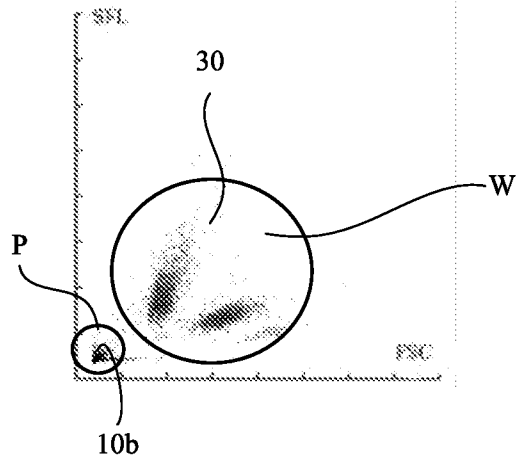


图 2

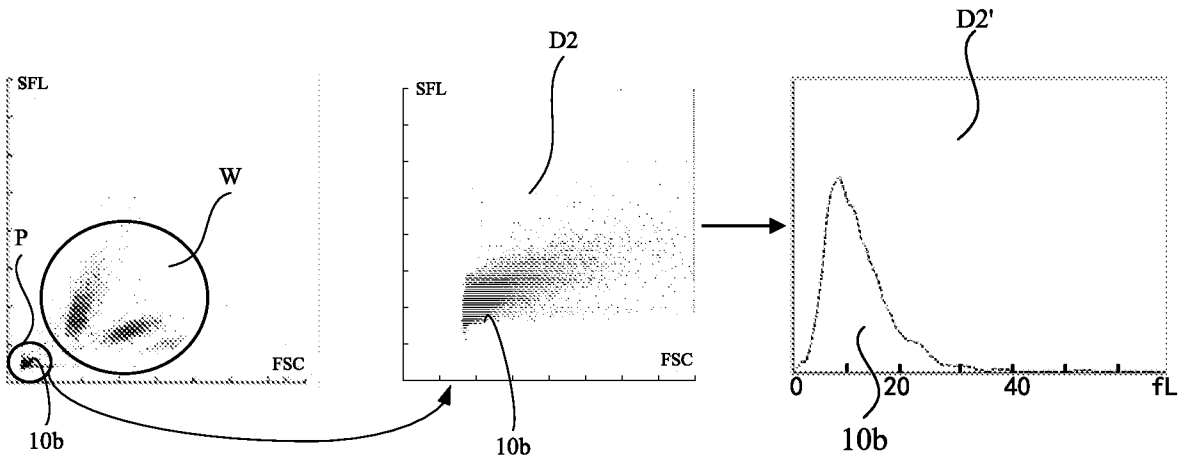


图 3A

图 3B

图 3C

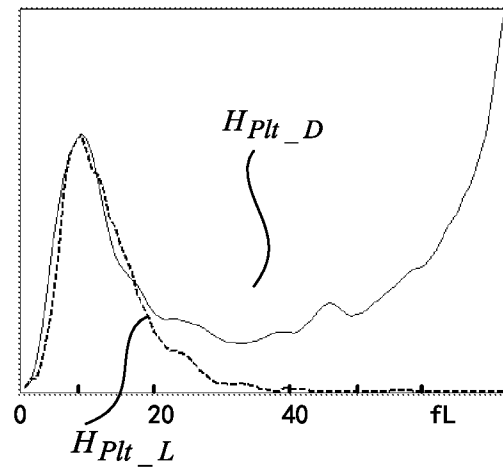


图 4

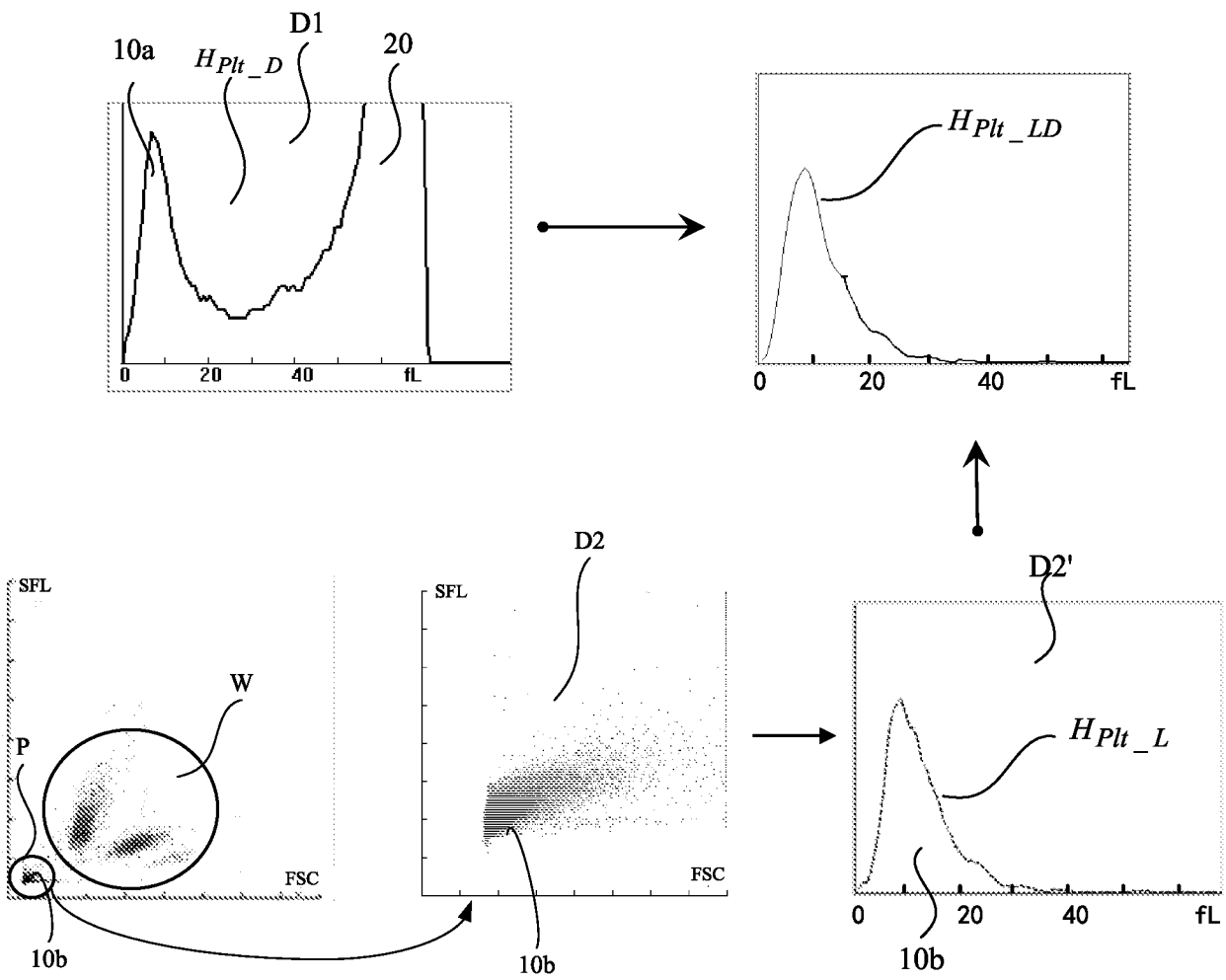


图 5

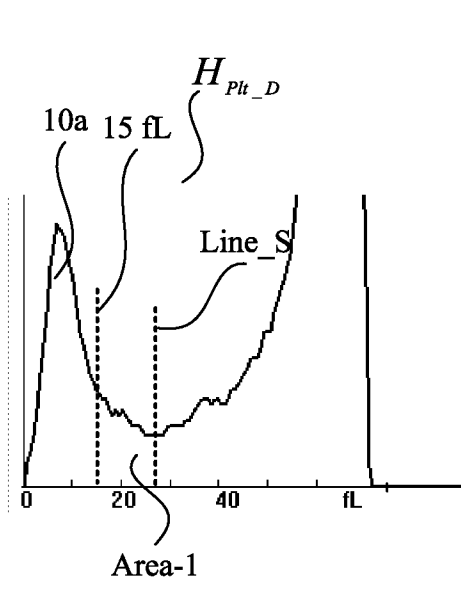


图 6A

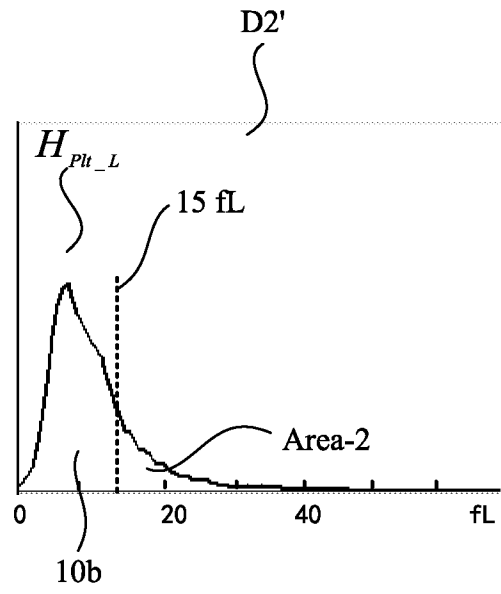


图 6B

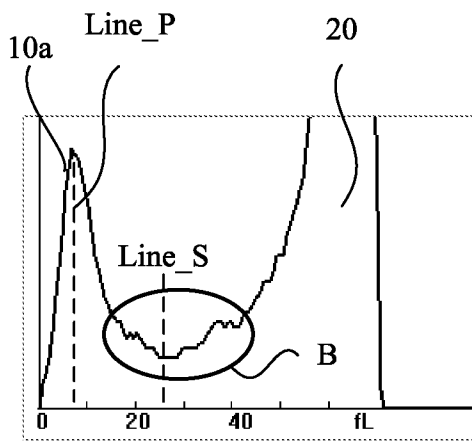


图 7

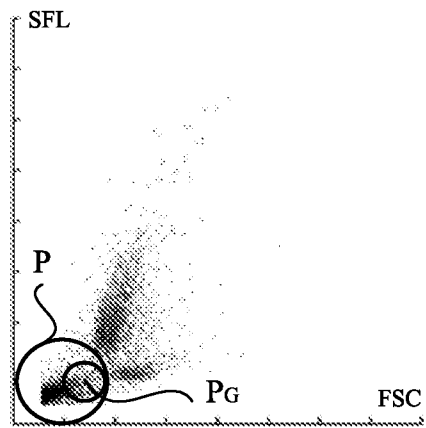


图 8

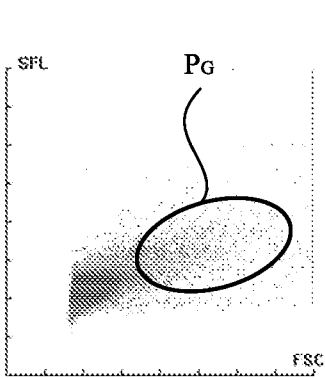


图 9A

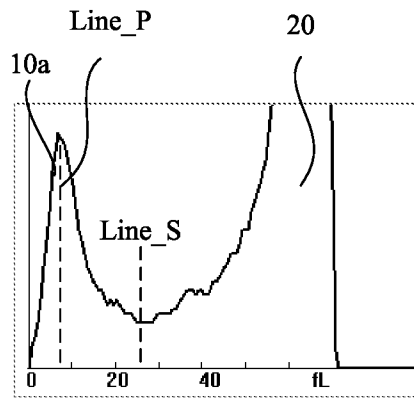


图 9B

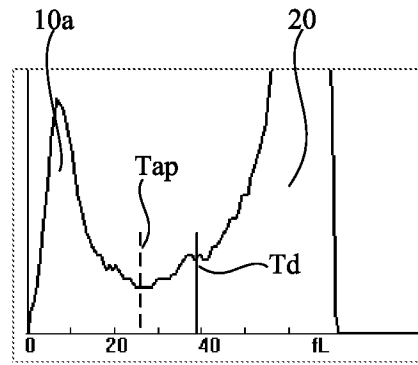


图 9C

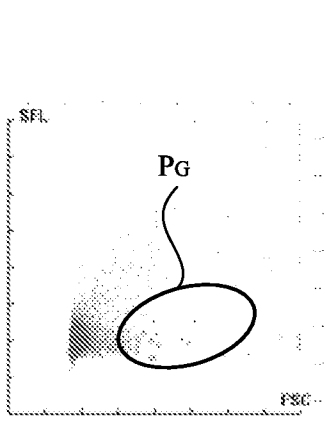


图 10A

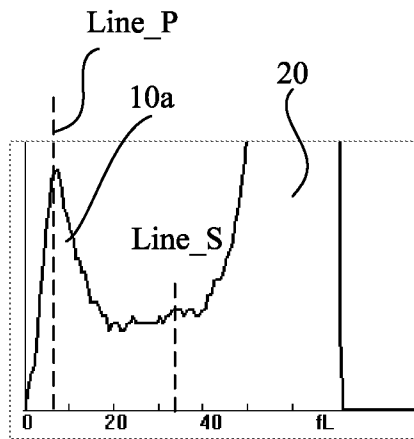


图 10B

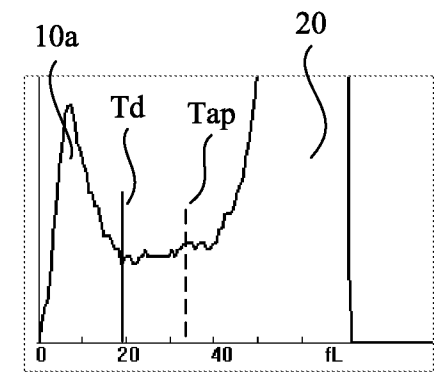


图 10C

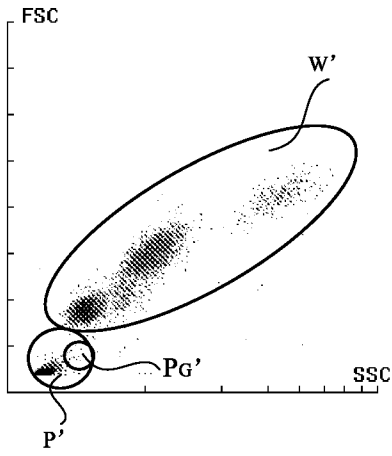


图 11A

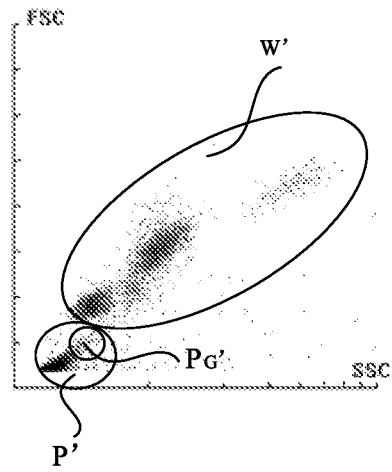


图 11B

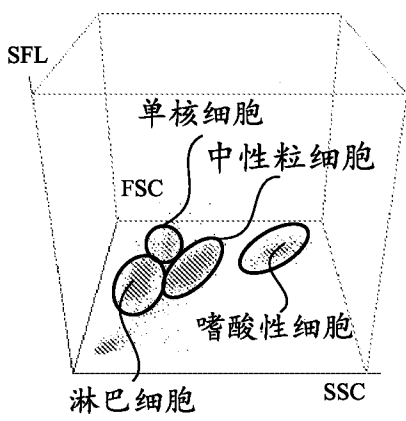


图 12

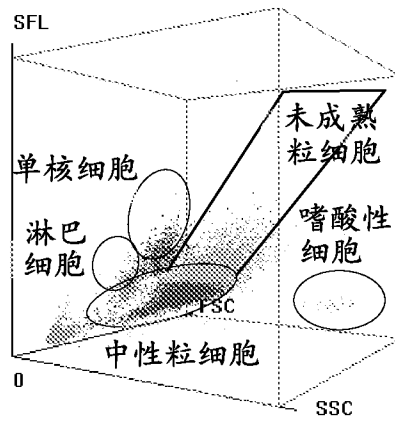


图 13

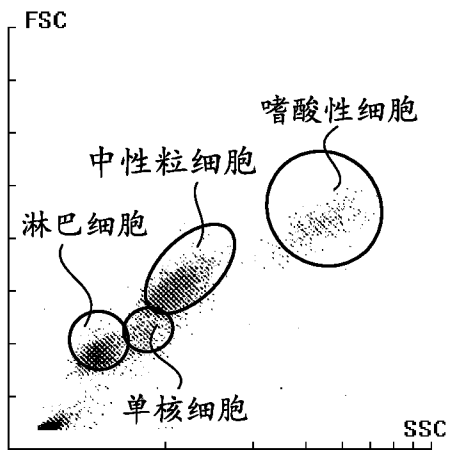


图 14

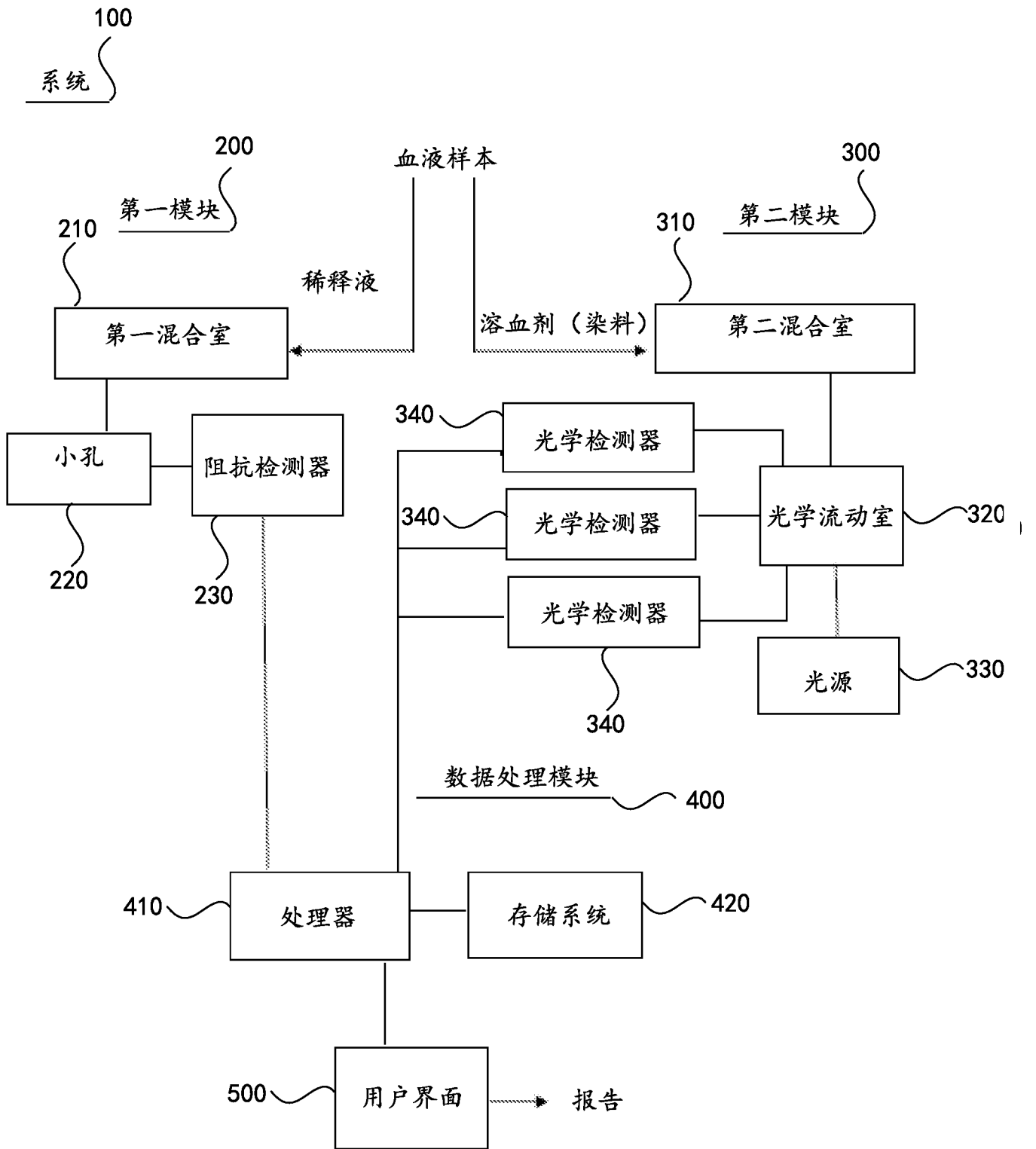


图 15

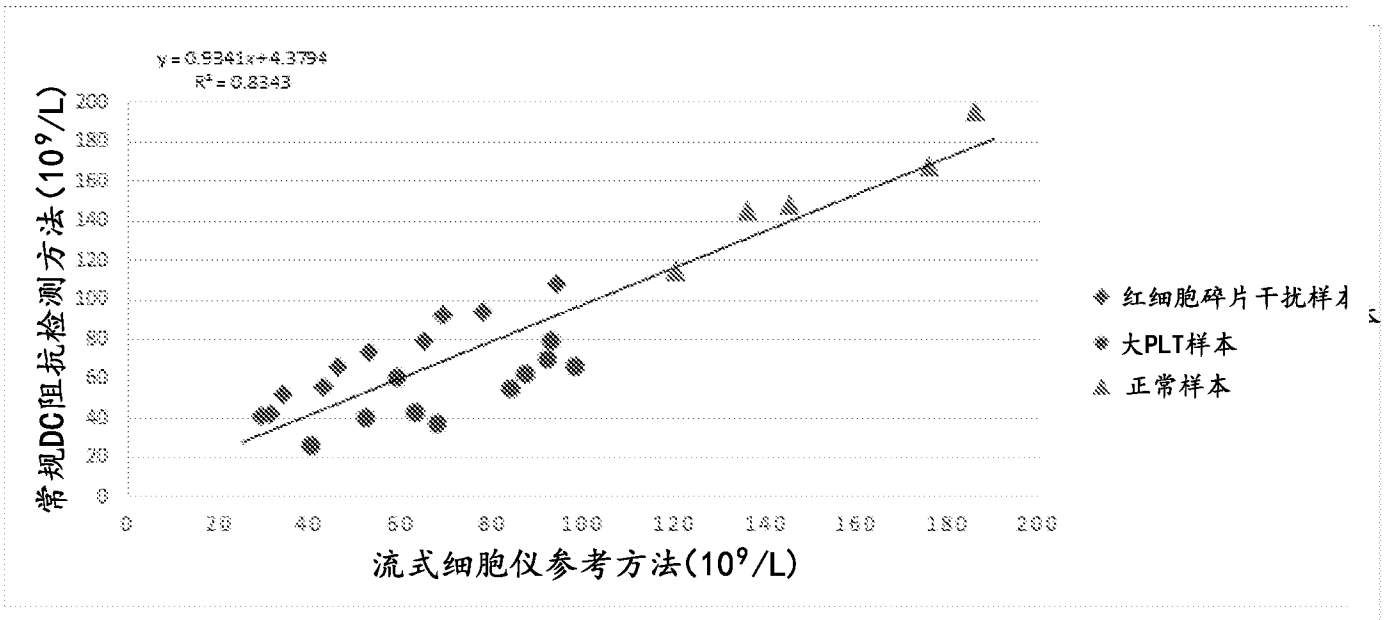


图 16

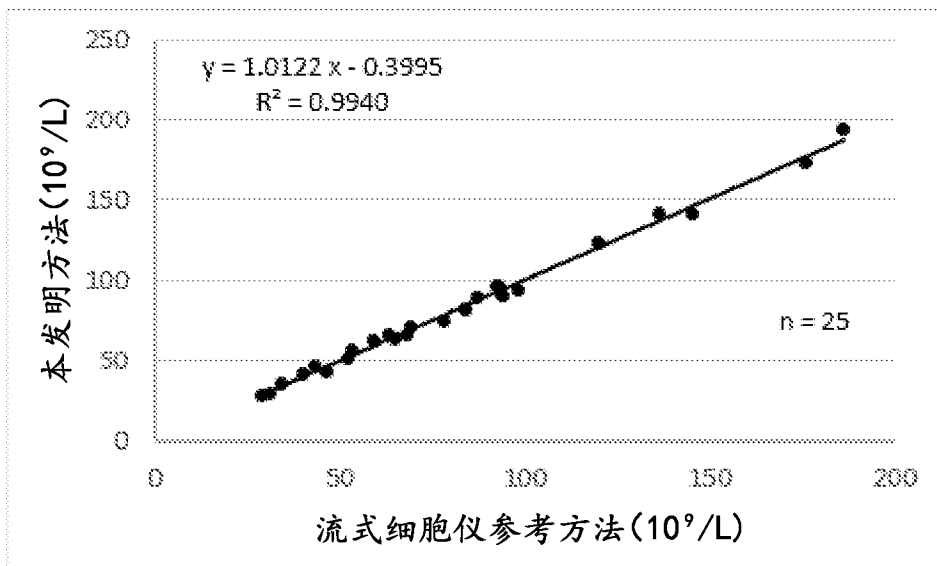


图 17

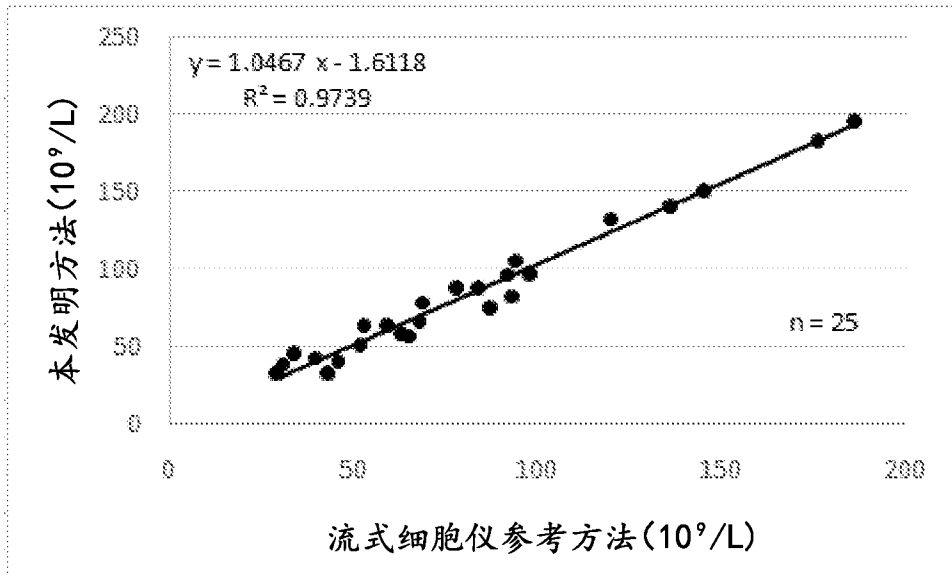


图 18

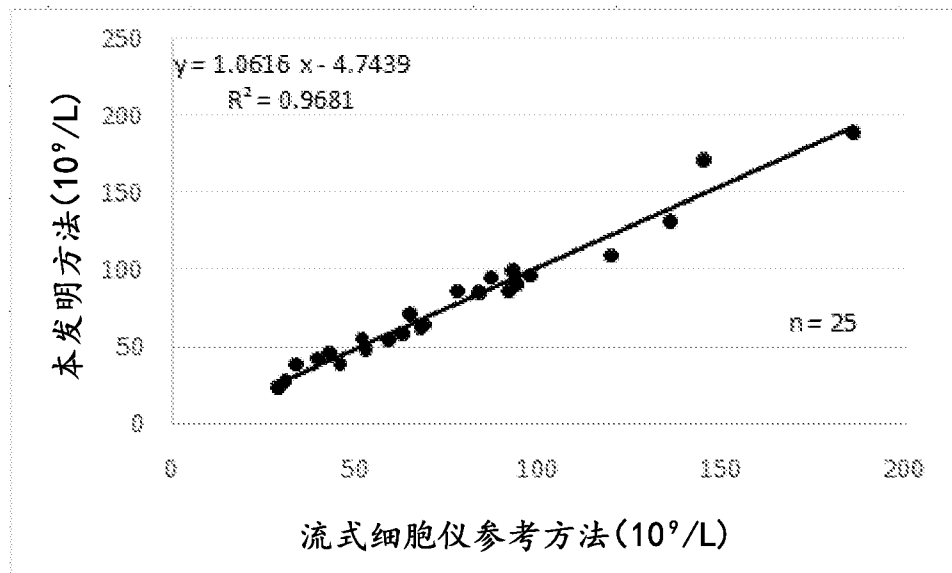


图 19

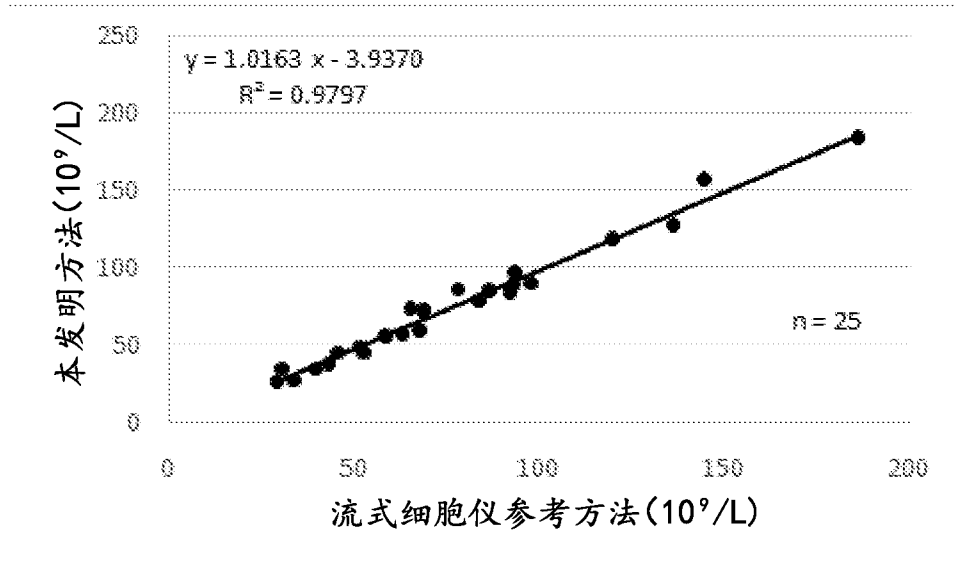


图 20

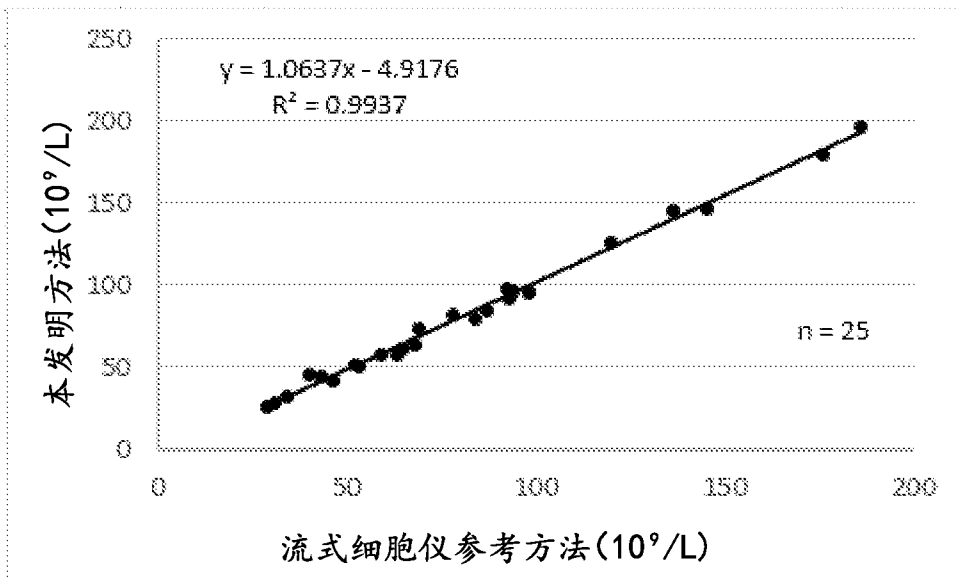


图 21

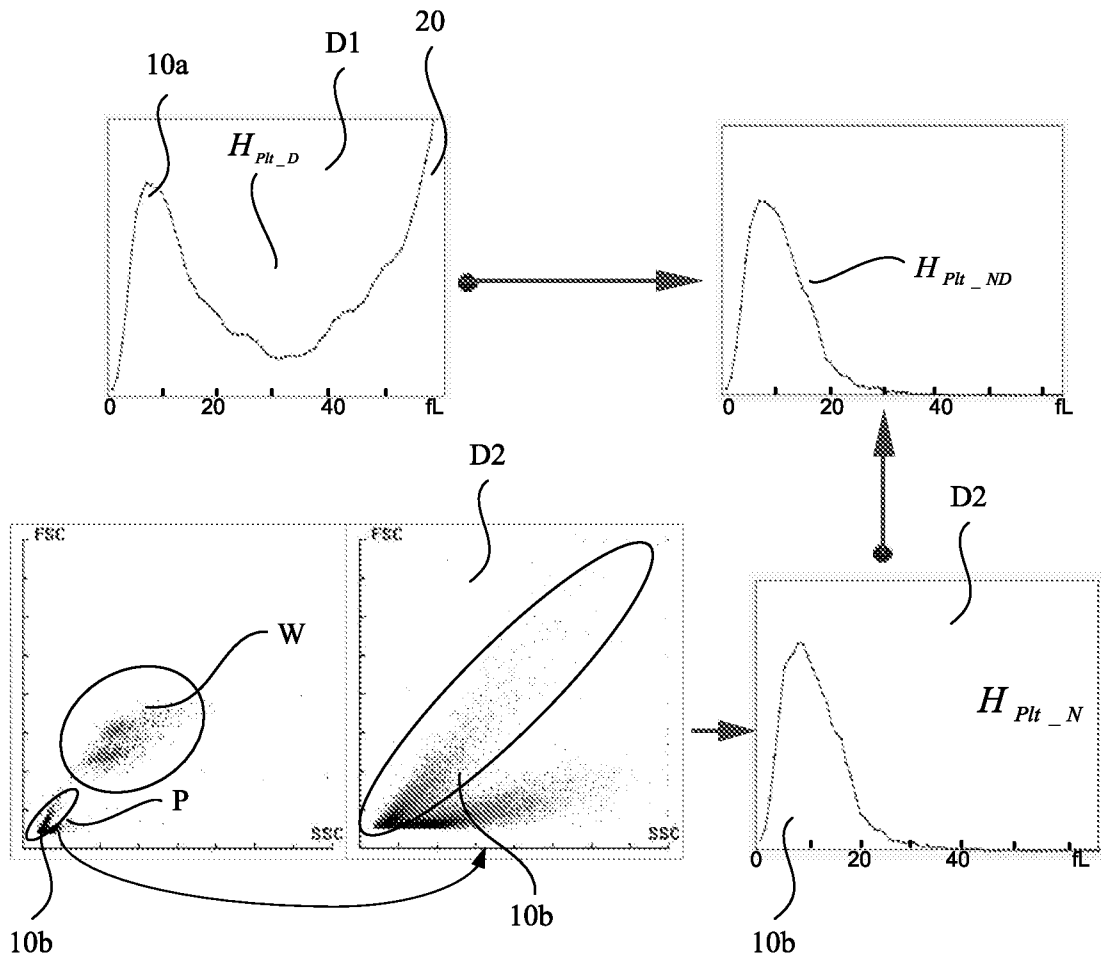


图 22

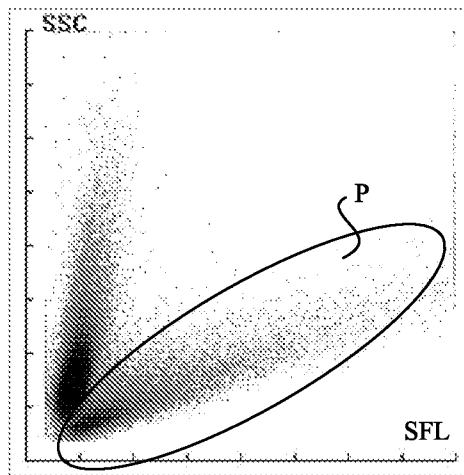


图 23

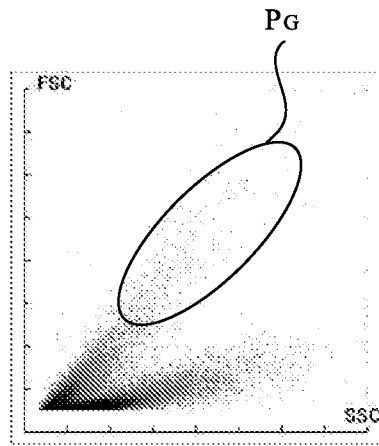


图 24

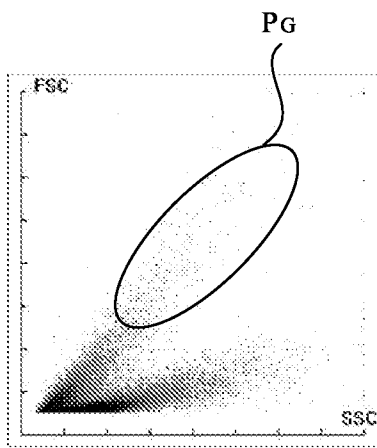


图 25A

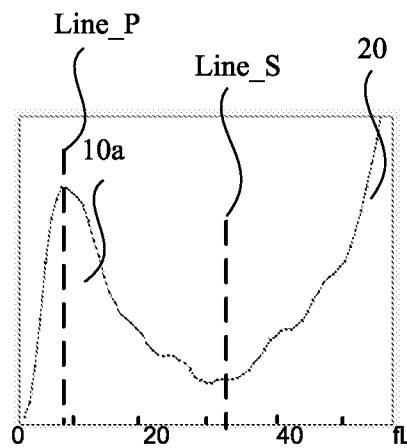


图 25B

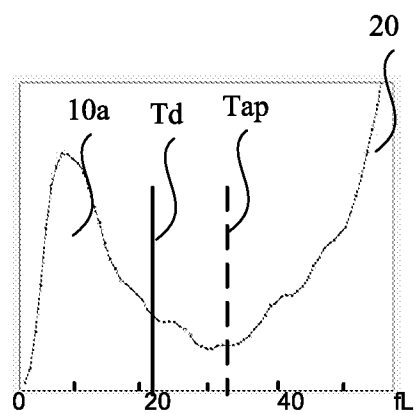


图 25C

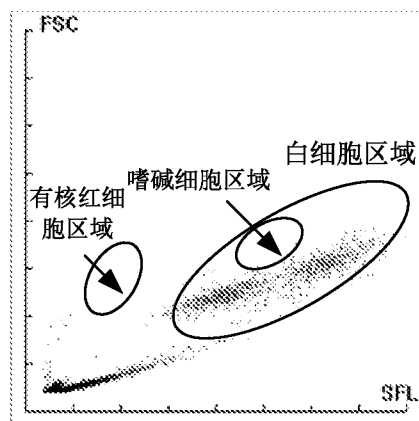


图 26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/084687

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 15/12(2006.01)i; G01N 21/47(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNPAT, CNTXT, CNKI, EPODOC, WPI, EPTXT, USTXT, WOTXT: 血液, 分析, 样本, 第一, 稀释, 血小板, 电阻, 阻抗, 库尔特, 干扰, 光学, 激光, 差异, 评估, 报警, 异常, 第一, 第二, 比较, 散射, platelet?, resistance, impedance, disturb+, optics, laser, difference, evaluat+, warn, alarm, abnormal, first, second, compare

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 103472034 A (SHENZHEN ZHONGKE QIANGHUA TECHNOLOGY CO., LTD.) 25 December 2013 (2013-12-25) description, paragraphs [0004]-[0044], and figures 1-7	1-69
A	CN 1549925 A (BECKMAN COULTER, INC.) 24 November 2004 (2004-11-24) entire document	1-69
A	CN 103472216 A (SHENZHEN ZHONGKE QIANGHUA TECHNOLOGY CO., LTD.) 25 December 2013 (2013-12-25) entire document	1-69
A	CN 104541149 A (BECKMAN COULTER, INC.) 22 April 2015 (2015-04-22) entire document	1-69
A	CN 103471980 A (SHENZHEN ZHONGKE QIANGHUA TECHNOLOGY CO., LTD.) 25 December 2013 (2013-12-25) entire document	1-69
A	CN 103471982 A (SHENZHEN ZHONGKE QIANGHUA TECHNOLOGY CO., LTD.) 25 December 2013 (2013-12-25) entire document	1-69

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

04 July 2019

Date of mailing of the international search report

25 July 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

National Intellectual Property Administration, PRC (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing
100088
China

Authorized officer

Facsimile No. (86-10)62019451

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/084687

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2007105230 A1 (BECKMAN COULTER, INC.) 10 May 2007 (2007-05-10) entire document	1-69
<hr/>		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2019/084687

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	103472034	A	25 December 2013	CN	103472034	B	28 October 2015
CN	1549925	A	24 November 2004	EP	1412740	A1	28 April 2004
				CN	1276252	C	20 September 2006
				US	2003235917	A1	25 December 2003
				US	6673618	B1	06 January 2004
				EP	1412740	B1	08 July 2015
				WO	03012429	A1	13 February 2003
				JP	2005506525	A	03 March 2005
CN	103472216	A	25 December 2013	None			
CN	104541149	A	22 April 2015	JP	2015522165	A	03 August 2015
				KR	101963477	B1	28 March 2019
				US	2015330963	A1	19 November 2015
				EP	2870458	A1	13 May 2015
				CN	104541149	B	01 March 2017
				JP	6321637	B2	09 May 2018
				US	2014011232	A1	09 January 2014
				US	9588102	B2	07 March 2017
				KR	20150036329	A	07 April 2015
				IN	10974DEN2014	A	18 September 2015
				US	9096885	B2	04 August 2015
				WO	2014008424	A1	09 January 2014
CN	103471980	A	25 December 2013	CN	103471980	B	26 August 2015
CN	103471982	A	25 December 2013	CN	103471982	B	25 November 2015
US	2007105230	A1	10 May 2007	JP	5058172	B2	24 October 2012
				EP	1949073	B1	08 June 2016
				US	7344890	B2	18 March 2008
				JP	2009515194	A	09 April 2009
				EP	1949073	A2	30 July 2008
				WO	2007056622	A2	18 May 2007

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2019/084687

<p>A. 主题的分类</p> <p>G01N 15/12(2006.01)i; G01N 21/47(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																										
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>G01N</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNPAT, CNTXT, CNKI, EPODOC, WPI, EPTXT, USTXT, WOTXT:血液, 分析, 样本, 第一, 稀释, 血小板, 电阻, 阻抗, 库尔特, 干扰, 光学, 激光, 差异, 评估, 报警, 异常, 第一, 第二, 比较, 散射, platelet?, resistance, impedance, disturb+, optics, laser, difference, evaluat+, warn, alarm, abnormal, first, second, compare</p>																										
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>CN 103472034 A (深圳中科强华科技有限公司) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 说明书第[0004]-[0044]段, 图1-7</td> <td>1-69</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 1549925 A (贝克曼库尔特有限公司) 2004年 11月 24日 (2004 - 11 - 24) 全文</td> <td>1-69</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 103472216 A (深圳中科强华科技有限公司) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 全文</td> <td>1-69</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 104541149 A (贝克曼考尔特公司) 2015年 4月 22日 (2015 - 04 - 22) 全文</td> <td>1-69</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 103471980 A (深圳中科强华科技有限公司) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 全文</td> <td>1-69</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 103471982 A (深圳中科强华科技有限公司) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 全文</td> <td>1-69</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2007105230 A1 (BECKMAN COULTER, INC.) 2007年 5月 10日 (2007 - 05 - 10) 全文</td> <td>1-69</td> </tr> </tbody> </table> <p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件</p>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	CN 103472034 A (深圳中科强华科技有限公司) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 说明书第[0004]-[0044]段, 图1-7	1-69	A	CN 1549925 A (贝克曼库尔特有限公司) 2004年 11月 24日 (2004 - 11 - 24) 全文	1-69	A	CN 103472216 A (深圳中科强华科技有限公司) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 全文	1-69	A	CN 104541149 A (贝克曼考尔特公司) 2015年 4月 22日 (2015 - 04 - 22) 全文	1-69	A	CN 103471980 A (深圳中科强华科技有限公司) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 全文	1-69	A	CN 103471982 A (深圳中科强华科技有限公司) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 全文	1-69	A	US 2007105230 A1 (BECKMAN COULTER, INC.) 2007年 5月 10日 (2007 - 05 - 10) 全文	1-69
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																								
X	CN 103472034 A (深圳中科强华科技有限公司) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 说明书第[0004]-[0044]段, 图1-7	1-69																								
A	CN 1549925 A (贝克曼库尔特有限公司) 2004年 11月 24日 (2004 - 11 - 24) 全文	1-69																								
A	CN 103472216 A (深圳中科强华科技有限公司) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 全文	1-69																								
A	CN 104541149 A (贝克曼考尔特公司) 2015年 4月 22日 (2015 - 04 - 22) 全文	1-69																								
A	CN 103471980 A (深圳中科强华科技有限公司) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 全文	1-69																								
A	CN 103471982 A (深圳中科强华科技有限公司) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 全文	1-69																								
A	US 2007105230 A1 (BECKMAN COULTER, INC.) 2007年 5月 10日 (2007 - 05 - 10) 全文	1-69																								
国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期																									
2019年 7月 4日	2019年 7月 25日																									
ISA/CN的名称和邮寄地址	受权官员																									
中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	杨庆林																									
传真号 (86-10)62019451	电话号码 86-(10)-53962384																									

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2019/084687

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	103472034	A	2013年 12月 25日	CN	103472034	B	2015年 10月 28日
CN	1549925	A	2004年 11月 24日	EP	1412740	A1	2004年 4月 28日
				CN	1276252	C	2006年 9月 20日
				US	2003235917	A1	2003年 12月 25日
				US	6673618	B1	2004年 1月 6日
				EP	1412740	B1	2015年 7月 8日
				WO	03012429	A1	2003年 2月 13日
				JP	2005506525	A	2005年 3月 3日
CN	103472216	A	2013年 12月 25日	无			
CN	104541149	A	2015年 4月 22日	JP	2015522165	A	2015年 8月 3日
				KR	101963477	B1	2019年 3月 28日
				US	2015330963	A1	2015年 11月 19日
				EP	2870458	A1	2015年 5月 13日
				CN	104541149	B	2017年 3月 1日
				JP	6321637	B2	2018年 5月 9日
				US	2014011232	A1	2014年 1月 9日
				US	9588102	B2	2017年 3月 7日
				KR	20150036329	A	2015年 4月 7日
				IN	10974DEN2014	A	2015年 9月 18日
				US	9096885	B2	2015年 8月 4日
				WO	2014008424	A1	2014年 1月 9日
CN	103471980	A	2013年 12月 25日	CN	103471980	B	2015年 8月 26日
CN	103471982	A	2013年 12月 25日	CN	103471982	B	2015年 11月 25日
US	2007105230	A1	2007年 5月 10日	JP	5058172	B2	2012年 10月 24日
				EP	1949073	B1	2016年 6月 8日
				US	7344890	B2	2008年 3月 18日
				JP	2009515194	A	2009年 4月 9日
				EP	1949073	A2	2008年 7月 30日
				WO	2007056622	A2	2007年 5月 18日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2015年1月)