

(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
2020 年 7 月 2 日 (02.07.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/132906 A1

(51) 国际专利分类号:
G01N 33/49 (2006.01) *G01N 33/96* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2018/123638

(22) 国际申请日: 2018 年 12 月 25 日 (25.12.2018)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(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 12 路迈瑞大厦, Guangdong 518057 (CN)。

(72) 发明人: 孙思祥 (SUN, Sixiang); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南 12 路迈瑞大厦,

Guangdong 518057 (CN)。 谢键 (XIE, Jian); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南 12 路迈瑞大厦, Guangdong 518057 (CN)。

(74) 代理人: 北京派特恩知识产权代理有限公司 (CHINA PAT INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE); 中国北京市海淀区海淀南路 21 号中关村知识产权大厦 B 座 2 层, Beijing 100080 (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,

(54) **Title:** PLATELET SIMULATION PARTICLE AND PREPARATION METHOD THEREFOR AND QUALITY CONTROL MATERIAL OR CALIBRATION MATERIAL CONTAINING SAME

(54) 发明名称: 血小板模拟粒子及其制备方法以及含该模拟粒子的质控物或校准物

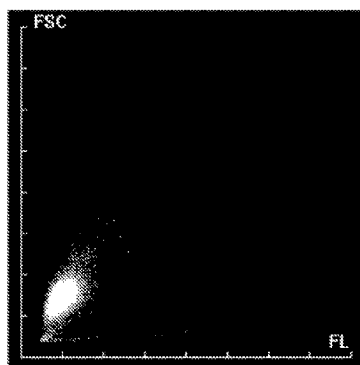


图 1B

(57) **Abstract:** Provided is a method for preparing a platelet simulation particle, which comprises the step of performing a modification treatment on animal erythrocytes using trifluoromethyl compounds, so as to prepare the platelet simulation particle which is capable of binding to a fluorescent dye. The method can allow the platelet simulation particle to bind to fluorescent dye molecules simply and effectively. The present invention also relates to another method for preparing a platelet simulation particle, which comprises the step of performing an immobilization treatment on animal erythrocytes using tannic acids and aldehydes, so as to prepare the platelet simulation particle. The method can improve the stability of the platelet simulation particle. In addition, the present invention also relates to the platelet simulation particle prepared according to the method and a quality control material or a calibration material containing the platelet simulation particle.

(57) **摘要:** 一种制备血小板模拟粒子的方法, 其中使用三氟甲基类化合物对动物红细胞进行修饰处理, 以制成能结合荧光染料的血小板模拟粒子。该方法能使血小板模拟粒子与荧光染料分子简单、有效地结合。还涉及另一种制备血小板模拟粒子的方法, 其中使用单宁酸和醛类对动物红细胞进行固定处理, 以制成血小板模拟粒子。该方法能提高血小板模拟粒子的稳定性。此外还涉及按照该方法制备的血小板模拟粒子及含有该血小板模拟粒子的质控物或校准物。

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))。

血小板模拟粒子及其制备方法 以及含该模拟粒子的质控物或校准物

技术领域

本发明涉及血液质控校准物领域，尤其是涉及血小板模拟粒子及其制备方法以及包
5 含该血小板模拟粒子的质控物或校准物。

背景技术

血细胞分析仪用于对血液样品中存在的不同类型细胞（诸如血小板、白细胞、红细胞和网织红细胞等）进行检测分析，其检测分析功能是依据每一种类型细胞的电学和/或光学性质来实现的。

10 为保证分析结果的准确性和精确性，需要定期用血液质控物对血细胞分析仪进行日常监控。血液质控物是一种含有单一组分或多组分血细胞或血细胞模拟粒子的液体，具备如同血液一样的可检测特性。

在血液质控物所包含的各类血细胞模拟粒子中，血小板模拟粒子的制备所面临的问题比较多。

15 在以人源血小板为原材料制备血小板模拟粒子的方法中，通过使用聚乙二醇（缩写 PEG）增强血小板稳定性，但是该制备方法的缺点在于：1）当血小板悬浮于悬液并离开血管时会发生破裂，从而引起促凝血酶原激酶的释放并导致凝血；2）该方法所制备的血小板模拟粒子易活化进而引发聚集效应，导致质控品失效；3）人血小板提取的困难且低效；4）人源血小板商业来源价格昂贵。

20 此外，已经开发了采用动物红细胞来制备血小板模拟粒子的方法，例如，US4179398A 和 US5008201A 中使用山羊红细胞来制备血小板模拟粒子，CN1891230A 中使用鹰隼血液来制备血小板模拟粒子等。

在使用动物红细胞制备血小板模拟粒子的方法中，如果要使动物红细胞能够与荧光染料结合从而产生荧光信号，由于动物红细胞核酸含量很低而需要对动物红细胞进行处
25 理以使其表现出由核酸所带来的荧光方向上的展出。目前已提出了以下方法：1）采用与荧光染料产生特异性结合的物质对动物红细胞进行处理，例如向动物红细胞内注入核酸，以使其表现出由核酸带来的荧光方向上的展出，但是该方法成本较高且实现难度大；2）预先使用特定的荧光染料、例如 N-羧基琥珀酰亚胺活化的蛋白荧光染料对动物红细

胞进行染色处理,使经染色处理的动物红细胞在检测通道中产生荧光信号,但是该方法对该荧光染料有较高的要求,需要预先进行复杂的活化步骤。

因此,亟需一种操作简便的血小板模拟粒子制备方法,该方法所制备的血小板模拟粒子可以实现在荧光方向上的良好展出。

5 另一方面,在使用动物红细胞来制备血小板模拟粒子的方法中,通常使用甲醛与戊二醛混合溶液对模拟粒子进行固定处理。然而,该方法所获得血小板模拟粒子与真实的人血小板粒子差距较大且易与旁伴噪声及红细胞模拟粒子碎片在散点图上混合,对计数准确性及质控物稳定性产生影响。此外,现有的血小板模拟粒子由于上述固定方式强度
10 过大而导致难以被白细胞分群溶血剂完全溶解,使得在白细胞分群通道中产生的信号过大,致使白细胞分群通道所产生的计数粒子数剧烈增大,采样时间缩短,进而影响了白细胞分群测量结果的准确性。

因此,亟需一种血小板模拟粒子的制备方法,该方法制备的血小板模拟粒子具有良好的稳定性及合适的固定强度。

发明内容

15 因此,为了解决上述问题,本发明提供了新的制备血小板模拟粒子的方法、由该方法制备的血小板模拟粒子以及包含该血小板模拟粒子的质控物或校准物。

为此,在第一方面,本发明提供了一种制备血小板模拟粒子的方法,其中,使用三氟甲基类化合物对动物红细胞进行修饰处理,以制成能结合荧光染料的血小板模拟粒子。所述动物红细胞的体积大小优选可以为 2fL 至 25fL。

20 本发明通过使用三氟甲基类化合物对动物红细胞进行修饰处理,使得经修饰处理的动物红细胞能够与血细胞分析仪中的荧光染料分子简单、有效地结合,因此,由经三氟甲基类化合物修饰处理的动物红细胞所制成的血小板模拟粒子能够在网织红通道(也称为 RET 通道)中产生与真实的人血小板相近的荧光信号。与现有技术相比,用于修饰处理的三氟甲基类化合物容易获得、成本低廉,而且使用三氟甲基类化合物进行修饰处
25 理的操作简单。

在一些的实施方式中,本发明的三氟甲基类化合物为被至少一个三氟甲基取代的醛和/或被至少一个三氟甲基取代的酸。

在具体的实施方式中,被至少一个三氟甲基取代的醛的结构如式 I 所示:



被至少一个三氟甲基取代的酸的结构如式 II 所示：



其中， R_1 和 R_2 各自为 H、 C_1 - C_4 烷基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_7 - C_{10} 苯烷基和 C_7 - C_{10} 烷基苯基。

5 在一些实施方式中，本发明的三氟甲基类化合物可以选自以下项组成的组中一种或更多种：对三氟甲基苯甲醛、2,4-二三氟甲基苯甲醛、对三氟甲基苯甲酸、三氟乙酸和三氟乙醛。

在具体的实施方式中，本发明所使用的三氟甲基类化合物的反应浓度可以约为 0.1 v/v%~1 v/v%、优选可以约为 0.2 v/v%~0.6 v/v%，例如可以约为 0.25 v/v% 或 0.5 v/v%。

10 在具体的实施方式中，使用三氟甲基类化合物进行修饰处理的时长可约为 5min~40min、优选约为 15min~30min。

进一步地，按照本发明的第一方面的制备血小板模拟粒子的方法可以进一步包括：使用固定剂对动物红细胞进行固定处理。

在此，对于所述固定处理与所述修饰处理的顺序没有特别的限制。例如，可以先对
15 动物红细胞进行固定处理，再使用三氟甲基类化合物对经固定的动物红细胞进行修饰处理；或者，可以在使用三氟甲基类化合物对动物红细胞进行修饰处理之后，再对经修饰的动物红细胞进行固定处理。

根据本发明的第一方面，对于固定剂的种类没有特别的限制，任何用于固定血小板模拟粒子的常见固定剂都可以使用。示例性固定剂例如可以是选自以下项组成的组中一
20 种或多种固定剂：多聚甲醛、甲醛、丙烯醛、丙二醛、戊二醛、己二醛、甲醇、乙醇和乙酸。

在有利的实施方式中，可以使用醛类固定剂对动物红细胞进行固定处理，例如多聚甲醛、甲醛、丙烯醛、丙二醛、戊二醛和己二醛中的一种或更多种。优选的，所述醛类固定剂包括戊二醛。

25 根据本发明的第一方面，对于固定剂的浓度没有特别的限制，只要能够实现常规的固定效果即可。

更进一步地，当使用醛类对动物红细胞进行固定处理时，本发明的制备血小板模拟粒子的方法还可以包括使用单宁酸（也称为单宁）对动物细胞进行固定处理。在此情况下，与单独使用醛类固定相比，通过该实施方式所制备的血小板模拟粒子能够在较强溶血能力试剂（DIFF 通道的溶血剂）作用下溶血，而在较弱溶血能力试剂（RET 通道稀
30

释液)作用下稳定,并且具有较好的保存稳定性。

对于醛类和单宁酸在固定处理时的使用顺序,本发明没有特别的限制。例如,可以先使用单宁酸对动物红细胞进行固定处理,再使用醛类化合物对动物红细胞进行固定处理;或者,在使用醛类对动物红细胞进行固定处理之后,再使用单宁酸对动物红细胞进行固定处理。

在本发明的有利实施方式中,本发明的醛类的反应浓度可以约为 0.0075 v/v%~0.025 v/v%、优选可以约为 0.01 v/v%~0.0125 v/v%。例如,本发明所使用的醛类的反应浓度可以约为 0.0075 v/v%、0.01 v/v%、0.0125 v/v%、0.015 v/v%、0.0175 v/v%、0.02 v/v%或 0.0225 v/v%。

在本发明的有利实施方式中,本发明的单宁酸的反应浓度可以约为 5mg/L~75mg/L、优选可以约为 15mg/L~37.5mg/L、更优选可以约为 15mg/L~25mg/L。例如,本发明所使用的单宁酸的反应浓度还可以约为 20mg/L、30mg/L、40mg/L、50mg/L、60mg/L 或 70mg/L。

对于动物红细胞的来源,本发明没有特别的限制,任何可用于制备血小板模拟粒子的来源于动物的红细胞均可以用于本发明。

在优选的实施方式中,所述动物红细胞是来源于哺乳动物的红细胞,尤其是山羊红细胞和绵羊红细胞中的一种或更多种。

在第二方面,本发明提供了一种制备血小板模拟粒子的方法,其中,使用单宁酸和醛类对动物红细胞进行固定处理,以制成血小板模拟粒子。所述动物红细胞的体积大小优选可以为 2fL 至 25fL。

本发明通过单宁酸和醛类对动物红细胞进行固定处理来制备血小板模拟粒子。如以下实施例中所证实的,经该固定处理后,所制备的血小板模拟粒子能够在较强溶血能力试剂(DIFF 通道溶血剂)作用下溶血,而在较弱溶血能力试剂(RET 通道稀释液)作用下稳定,并且具有较好的保存稳定性。

对于醛类和单宁酸在固定处理时的使用顺序,本发明没有特别的限制,例如,可以先使用单宁酸对动物红细胞进行固定处理,再使用醛类化合物对动物红细胞进行固定处理;或者,在使用醛类对动物红细胞进行固定处理之后,再使用单宁酸对动物红细胞进行固定处理。优选地,先使用单宁酸对动物红细胞进行固定处理,再使用醛类化合物对动物红细胞进行固定处理。

在具体的实施方式中,醛类固定剂选自以下项中的一种或多种:多聚甲醛、甲醛、

丙烯醛、丙二醛、戊二醛和己二醛。优选的，所述醛类固定剂包括戊二醛。

在本发明的有利实施方式中，本发明的醛类的反应浓度可以约为 0.0075 v/v%~0.025 v/v%、优选可以约为 0.01 v/v%~0.0125 v/v%。例如，本发明的醛类的反应浓度可以约为 0.0075 v/v%、0.01 v/v%、0.0125 v/v%、0.015 v/v%、0.0175 v/v%、0.02 v/v% 或 0.0225 v/v%。

5 在本发明的有利实施方式中，本发明所使用的单宁酸的反应浓度可以约为 5mg/L~75mg/L、优选可以约为 15mg/L~37.5mg/L、更优选可以约为 15mg/L~25mg/L。例如，本发明所使用的单宁酸的反应浓度还可以约为 20mg/L、30mg/L、40mg/L、50mg/L、60mg/L 或 70mg/L。

在此应该说明的是，本文所说的“反应浓度”是指处理剂在动物红细胞处理过程中
10 与动物红细胞反应时的终浓度。

进一步地，按照本发明的第二方面的制备模拟粒子的方法还包括：对动物红细胞进行修饰处理，以使得所述动物红细胞能在血小板检测通道中产生荧光信号。

对于修饰处理与固定处理的顺序没有特别的限制。例如，可以先进行修饰处理，再使用单宁酸和醛类对动物红细胞进行固定处理；或者，可以在使用单宁酸和醛类对动物
15 红细胞进行固定处理之后，再进行修饰处理。

在具体的实施方式中，所述对动物红细胞进行修饰处理，以使得所述动物红细胞能在血小板检测通道中产生荧光信号的步骤包括：使用三氟甲基类化合物对动物红细胞进行修饰处理，以使得所述动物红细胞能结合荧光染料；或者使用荧光染料对所述动物红细胞进行染色处理。在此情况下，与未经修饰处理相比，所制备的血小板模拟粒子在荧
20 光方向上展出更好。与使用荧光染料进行染色处理相比，使用三氟甲基类化合物进行修饰处理的操作更加简单且成本更低。当然，在牺牲成本和操作性的情况下，也可以使用与染料特异性结合的物质对动物红细胞进行修饰处理，例如向动物红细胞内注入核酸。

在一些的实施方式中，所述三氟甲基类化合物为被至少一个三氟甲基取代的醛和/或被至少一个三氟甲基取代的酸。

25 在具体的实施方式中，被至少一个三氟甲基取代的醛的结构如式 I 所示：



被至少一个三氟甲基取代的酸的结构如式 II 所示：



其中， R_1 和 R_2 各自为 H、 C_1 - C_4 烷基、 C_6 - C_{10} 芳基、 C_7 - C_{10} 苯烷基或 C_7 - C_{10} 烷基苯
30 基。

在一些实施方式中，本发明的三氟甲基类化合物可以选自以下项组成的组中一种或多种：对三氟甲基苯甲醛、2,4-二三氟甲基苯甲醛、对三氟甲基苯甲酸、三氟乙酸和三氟乙醛。

在具体的实施方式中，本发明的三氟甲基类化合物的反应浓度可以约为 0.1 v/v%~1 v/v%、优选可以约为 0.2 v/v%~0.6 v/v%，例如可以约为 0.25 v/v%或 0.5 v/v%。

在具体的实施方式中，使用三氟甲基类化合物进行修饰处理的时长可约为 5min~40min、优选可以约为 15min~30min。

进一步地，当使用荧光染料对动物红细胞进行染色处理时，对于染色处理所使用的荧光染料，本领域技术人员能够确定用于染色动物红细胞的染料。示例性的染料可以是 N-羧基琥珀酰亚胺活化的蛋白荧光染料，但本发明不限于此。示例性染色步骤可以包括：使用 N-羧基琥珀酰亚胺对蛋白荧光染料进行活化，使蛋白荧光染料的羧基活化；将经活化的蛋白荧光染料与动物红细胞孵育，对动物红细胞进行染色，获得染色的红细胞。

对于动物红细胞的来源，本发明没有特别的限制，任何可用于制备血小板模拟粒子的动物来源的红细胞均可以用于本发明。

在优选的实施方式中，所述动物红细胞是来源于哺乳动物的红细胞，尤其是山羊红细胞和绵羊红细胞中的一种或更多种。

优选地，按照本发明的方法还包括对经过修饰处理和固定处理的动物红细胞进行洗涤。可以理解，洗涤的目的是去除多余或者结合不稳定的修饰物质和固定剂，以免对后续步骤或者对融合质控物的其它组分造成影响。采用常规的缓冲液进行洗涤，如含柠檬酸和柠檬酸钠的混合溶液，或者柠檬酸、柠檬酸钠和氯化钠的混合溶液，在此不做具体限定。

此外可以理解，在本发明制备的血小板模拟粒子基础上，还可以进一步对其进行球形化处理，以满足不同的使用需求。当然，球形化处理的具体步骤可以整合到本发明的制备方法中，在此不做具体限定。

在第三方面，本发明提供了一种血小板模拟粒子，所述血小板模拟粒由本发明的第一方面或第二方面所涉及的方法制备得到，其中所述血小板粒子含有网织血小板模拟粒子。

在第四方面，本发明提供了一种用于血细胞分析仪的质控物或校准物，其中，所述质控物或校准物含有本发明的血小板模拟粒子。

在本发明中，“质控物”是指为确保血液细胞分析仪的可靠性所合成的悬浮液，其具

有与血液相似的某些物理和化学性质，且包含尺寸和性状与人血液中存在的不同类细胞十分接近的细胞或颗粒。

在一些实施方式中，本发明的质控物或校准物还包括白细胞模拟粒子、红细胞模拟粒子和有核红细胞模拟粒子中的至少一种。

- 5 需要说明的是，在本发明的质控物或校准物中，可以根据不同的使用需求调整红细胞模拟粒子、血小板模拟粒子、白细胞模拟粒子、有核红细胞模拟粒子等组份的浓度，以配制出低值、中值、高值质控物或校准物，在此不做具体限定。

附图说明

10 图 1A 是实施例 1 中的未经对三氟甲基苯甲醛修饰处理的山羊红细胞在血液细胞分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图；

图 1B 是按照实施例 1 的方法步骤制备得到的血小板模拟粒子在血液细胞分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图；

图 2A 是实施例 2 中的未经对三氟甲基苯甲醛修饰处理的山羊红细胞在血液细胞分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图；

15 图 2B 是按照实施例 2 的方法步骤制备得到的血小板模拟粒子在血液细胞分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图；

图 3A 是实施例 3 中的未经对三氟甲基苯甲醛修饰处理的山羊红细胞在血液细胞分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图；

20 图 3B 是按照实施例 3 的方法步骤制备得到的血小板模拟粒子在血液细胞分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图；

图 4A 是实施例 4 中的未经 2,4-二三氟甲基苯甲醛修饰处理的山羊红细胞在血液细胞分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图；

图 4B 是按照实施例 4 的方法步骤制备得到的血小板模拟粒子在血液细胞分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图；

25 图 5A 是实施例 5 中的未经对三氟甲基苯甲酸修饰处理的山羊红细胞在血液细胞分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图；

图 5B 是按照实施例 5 的方法步骤制备得到的血小板模拟粒子在血液细胞分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图；

图 6A 是经过反应浓度为 0.0125v/v%的戊二醛固定处理之后制备得到的血小板模拟

粒子在血液细胞分析仪的 DIFF 通道内检测得到的侧向散射光-荧光散点图；

图 6B 是与图 6A 相同的血小板模拟粒子在血液细胞分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图；

图 6C 是经反应浓度为 0.025v/v%的戊二醛固定处理之后制备得到的血小板模拟粒子在血液细胞分析仪的 DIFF 通道内检测得到的侧向散射光-荧光散点图；

图 6D 是与图 6C 相同的血小板模拟粒子在血液细胞分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图。

具体实施方式

下面将结合本发明实施方式中的附图，对本发明实施方式中的技术方式进行清楚、完整地描述，显然，所描述的实施方式仅仅是本发明的一部分实施方式，而不是全部的实施方式。基于本发明中的实施方式，本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施方式，都属于本发明保护的范围。

在整个说明书中，除非另有特别说明，本文使用的术语应理解为如本领域中通常所使用的含义。因此，除非另有定义，本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域技术人员的一般理解相同的含义。若存在矛盾，本说明书优先。

细胞处理液的制备：

荧光染料溶液：将 5mg 的 N-羧基琥珀酰亚胺活化的蛋白荧光染料溶于 650 μ L 二甲基亚砜，配置成荧光染料溶液。

柠檬酸钠缓冲液：包含 10.0g/L 二水合柠檬酸三钠、0.4g/L 一水合柠檬酸、6.875g/L 氯化钠。

PBS 缓冲液：包含 5.9g/L 十二水合磷酸氢二钠、0.5g/L 二水合磷酸二氢钠、9.0g/L 氯化钠。

各实施例中的保存液为市售常规使用的保存液。

实施例 1

血小板模拟粒子的制备：

1) 取山羊红细胞，全血过滤，去除白细胞，收集滤后的红细胞（用作处理前的血小板模拟粒子）；

2) 使用 PBS 缓冲液离心洗涤红细胞两次;

3) PBS 缓冲液悬浮细胞, 加入对三氟甲基苯甲醛至 0.5% (v/v), 混匀保持 30 分钟使对三氟甲基苯甲醛与细胞反应充分, 反应结束后, 离心去上清, 重复洗涤两次;

4) 使用保存液悬浮粒子至适当计数, 2~8°C 冷藏, 含有网织血小板的血小板模拟粒子制备完成 (用作处理后的血小板模拟粒子)。

使用 Mindray BC-6800 血球分析仪分别对实施例 1 中的处理前的血小板模拟粒子和处理后的血小板模拟粒子进行检测, 结果参见图 1A 和图 1B, 图 1A 是处理前的血小板模拟粒子在该血球分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图, 图 1B 是处理后的血小板模拟粒子在该血球分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图。与用对三氟甲基苯甲醛修饰处理前相比, 经过对三氟甲基苯甲醛修饰处理的血小板模拟粒子在 RET 通道内能够获得明显更好的荧光展出。

实施例 2

血小板模拟粒子的制备:

1) 取山羊红细胞, 全血过滤, 去除白细胞, 收集滤后的红细胞 (用作处理前的血小板模拟粒子);

2) 使用 PBS 缓冲液离心洗涤红细胞两次;

3) 用 PBS 缓冲液悬浮细胞, 加入 50% 戊二醛溶液, 使其终浓度为 0.0125% (v/v), 室温固定 2 小时, 固定结束后, 离心去上清, 重复洗涤两次;

4) PBS 缓冲液悬浮细胞, 加入对三氟甲基苯甲醛至 0.5% (v/v), 混匀保持 15 分钟使对三氟甲基苯甲醛与细胞反应充分。反应结束后, 离心去上清, 重复洗涤两次;

5) 使用保存液悬浮粒子至适当计数, 2~8°C 冷藏, 含有网织血小板的血小板模拟粒子制备完成 (用作处理后的血小板模拟粒子)。

使用 Mindray BC-6800 血球分析仪分别对实施例 2 中的处理前的血小板模拟粒子和处理后的血小板模拟粒子进行检测, 结果参见图 2A 和图 2B, 图 2A 是处理前的血小板模拟粒子在该血球分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图, 图 2B 是处理后的血小板模拟粒子在该血球分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图。与用对三氟甲基苯甲醛修饰处理前相比, 先经戊二醛固定处理后经对三氟甲基苯甲醛修饰处理的血小板模拟粒子同样能够获得明显更好的荧光展出。

实施例 3

血小板模拟粒子的制备:

1) 取山羊红细胞, 全血过滤, 去除白细胞, 收集滤后的红细胞 (用作处理前的血小板模拟粒子);

5 2) 使用柠檬酸钠缓冲液离心洗涤红细胞两次;

3) 用柠檬酸钠缓冲液悬浮细胞, 加入对三氟甲基苯甲醛至 0.5% (v/v), 混匀保持 15 分钟使对三氟甲基苯甲醛与细胞反应充分。反应结束后, 离心去上清, 再加入柠檬酸钠缓冲液洗涤;

10 4) 用柠檬酸钠缓冲液悬浮细胞并调节至适当浓度, 加入单宁酸至 15mg/L, 室温固定 2 小时, 固定结束后, 离心去上清, 重复洗涤两次;

5) PBS 缓冲液悬浮细胞, 加入 50% 戊二醛溶液, 使其终浓度为 0.0125% (v/v), 室温固定 2 小时, 固定结束后, 离心去上清, 重复洗涤两次;

6) 使用保存液悬浮粒子至适当计数, 2~8°C 冷藏, 含有网织血小板的血小板模拟粒子制备完成 (用作处理后的血小板模拟粒子)。

15 使用 Mindray BC-6800 血球分析仪分别对实施例 3 中的处理前的血小板模拟粒子和处理后的血小板模拟粒子进行检测, 结果参见图 3A 和图 3B, 图 3A 是处理前的血小板模拟粒子在该血球分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图, 图 3B 是处理后的血小板模拟粒子在该血球分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图。与用对三氟甲基苯甲醛修饰处理前相比, 先经对三氟甲基苯甲醛修饰处理, 后经
20 单宁酸、戊二醛固定处理的血小板模拟粒子也能够获得明显更好的荧光展出。

实施例 4

血小板模拟粒子的制备:

1) 取山羊红细胞, 全血过滤, 去除白细胞, 收集滤后红细胞 (用作处理前的血小板模拟粒子);
25 板模拟粒子);

2) PBS 缓冲液离心洗涤红细胞两次;

3) PBS 缓冲液悬浮细胞, 加入 2,4-二三氟甲基苯甲醛至 0.25% (v/v), 混匀保持 30 分钟使 2,4-二三氟甲基苯甲醛与细胞反应充分。反应结束后, 离心去上清, 重复洗涤两次;

30 4) 保存液悬浮粒子至适当计数, 2~8°C 冷藏, 含有网织血小板的血小板模拟粒子制

备完成（用作处理后的血小板模拟粒子）。

使用 Mindray BC-6800 血球分析仪分别对实施例 4 中的处理前的血小板模拟粒子和处理后的血小板模拟粒子进行检测，结果参见图 4A 和图 4B，图 4A 是处理前的血小板模拟粒子在该血球分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图，图 4B 是处理后的血小板模拟粒子在该血球分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图。与用 2,4-二三氟甲基苯甲醛修饰处理前相比，经过 2,4-二三氟甲基苯甲醛修饰处理的血小板模拟粒子在 RET 通道内能够获得明显更好的荧光展出。

实施例 5

血小板模拟粒子的制备：

1) 取山羊红细胞，全血过滤，去除白细胞，收集滤后红细胞（用作处理前的血小板模拟粒子）；

2) PBS 缓冲液离心洗涤红细胞两次；

3) PBS 缓冲液悬浮细胞，加入对三氟甲基苯甲酸至 0.25% (v/v)，混匀保持 30 分钟使对三氟甲基苯甲酸与细胞反应充分。反应结束后，离心去上清，重复洗涤两次；

4) 保存液悬浮粒子至适当计数，2~8℃冷藏，含有网织血小板的血小板模拟粒子制备完成（用作处理后的血小板模拟粒子）。

使用 Mindray BC-6800 血球分析仪分别对实施例 5 中的处理前的血小板模拟粒子和处理后的血小板模拟粒子进行检测，结果参见图 5A 和图 5B，图 5A 是处理前的血小板模拟粒子在该血球分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图，图 5B 是处理后的血小板模拟粒子在该血球分析仪的 RET 通道内检测得到的荧光-前向散射光散点图。与用对三氟甲基苯甲酸修饰处理前相比，经过对三氟甲基苯甲酸修饰处理的血小板模拟粒子在 RET 通道内能够获得明显更好的荧光展出。

实施例 6

方案 A 依次使用单宁酸、戊二醛固定来制备模拟血小板粒子

1) 取山羊红细胞，全血过滤，去除白细胞，收集滤后的红细胞；

2) 使用柠檬酸钠缓冲液离心洗涤红细胞两次；

3) 柠檬酸钠缓冲液悬浮细胞，加入荧光染料溶液至 0.1%(v/v)，混匀保持 5 分钟使荧光染料与细胞反应充分。反应结束后，离心去上清，再加入柠檬酸钠缓冲液洗涤；

4) 柠檬酸钠缓冲液悬浮细胞并调节至适当浓度, 加入单宁酸至 15mg/L (v/v), 室温固定 2 小时, 固定结束后, 离心去上清, 重复洗涤两次;

5) PBS 缓冲液悬浮细胞, 调整至适当计数后置于 2-8℃冰箱冷藏一晚;

6) 一晚后将细胞悬浊液复温, 离心去上清并在此以 PBS 缓冲液悬浮细胞;

5 7) 加入 50%戊二醛溶液, 使其终浓度为 0.0125% (v/v), 室温处理 2 小时, 固定结束后, 离心去上清, 重复洗涤两次;

8) 保存液悬浮粒子至适当计数, 2-8℃冷藏, 含有网织血小板的血小板模拟粒子制备完成。

方案 B 依次使用戊二醛、单宁酸固定来制备模拟血小板粒子

10 1) 取山羊红细胞, 全血过滤, 去除白细胞, 收集滤后的红细胞;

2) 使用柠檬酸钠缓冲液离心洗涤红细胞两次;

3) 柠檬酸钠缓冲液悬浮细胞, 加入 0.1%荧光染料溶液, 混匀保持 5 分钟使荧光染料与细胞反应充分。反应结束后, 离心去上清, 再加入柠檬酸钠缓冲液洗涤;

15 4) PBS 缓冲液悬浮细胞, 加入 50%戊二醛溶液, 使其终浓度为 0.0125% (v/v), 室温处理 2 小时, 固定结束后, 离心去上清, 重复洗涤两次;

5) 柠檬酸钠缓冲液悬浮细胞并调节至适当浓度, 加入单宁酸至 15mg/L, 室温固定 2 小时, 固定结束后, 离心去上清, 重复洗涤两次;

6) 保存液悬浮粒子至适当计数, 2-8℃冷藏, 含有网织血小板的血小板模拟粒子制备完成。

20 方案 C 单独使用戊二醛固定来制备模拟血小板粒子

1) 取山羊红细胞, 全血过滤, 去除白细胞, 收集滤后的红细胞;

2) 使用柠檬酸钠缓冲液离心洗涤红细胞两次;

3) 柠檬酸钠缓冲液悬浮细胞, 加入 0.1%荧光染料溶液, 混匀保持 5 分钟使荧光染料与细胞反应充分。反应结束后, 离心去上清, 再加入柠檬酸钠缓冲液洗涤;

25 4) PBS 缓冲液悬浮细胞, 加入 50%戊二醛溶液, 使其终浓度为 0.0125% (v/v), 室温固定 2 小时, 固定结束后, 离心去上清, 重复洗涤两次;

5) 保存液悬浮粒子至适当计数, 2-8℃冷藏, 含有网织血小板的血小板模拟粒子制备完成。

30 在分别按照上述方案 A 和 C 对同样来源的样本进行处理后, 将处理后的样本置于在 30℃的条件下, 每天定期通过血液细胞分析仪对各个样本进行检测计数, 分别统计第

1 天、第 2 天、第 3 天和第 4 天的各样本的 RET 通道粒子数的变化。其中，处理当日（记为第 1 天）的 RET 通道粒子数记为 100%，结果如表 1 所示。

表 1 联合固定与单独固定的稳定性比较

血小板模拟粒子	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
方案 A	100%	101.0%	92.0%	82.9%
方案 C	100%	81.8%	60.7%	46.6%

5 此外，在分别按照上述方案 A 和 B 对同样来源的样本进行处理后，将处理后的样本置于在 30℃ 的条件下，每天定期通过血液细胞分析仪对各个样本进行检测计数，分别统计第 1 天、第 3 天、第 4 天和第 7 天的各样本的 RET 通道粒子数的变化。其中，处理当日（记为第 1 天）的 RET 通道粒子数记为 100%，结果如表 2 所示。

表 2 不同顺序的联合固定的稳定性比较

血小板模拟粒子	第 1 天	第 3 天	第 4 天	第 7 天
方案 A	100%	99.6%	76.1%	79.8%
方案 B	100%	99.5%	84.3%	78.7%

10

表 1 和表 2 分别示出了固定处理后的若干天，所制备的血小板模拟粒子的 RET 通道粒子数相对于第 1 天的百分比。可见，与单独使用戊二醛固定的方案 C 相比，采用单宁酸、戊二醛联合进行固定处理的方案 A 和 B 在血小板模拟粒子的稳定性方面取得了明显更好的效果。

15

实施例 7

采用实施例 6 方案 A 中血小板模拟粒子制备方法，并调整其中的单宁酸的反应浓度，以考察单宁酸的不同反应浓度对所制备的血小板模拟粒子稳定性的影响。在对同样来源的样本进行处理后，将处理后的样本置于在 30℃ 的条件下，定期通过血液细胞分析仪对各个样本进行检测计数，观察各样本的 RET 通道粒子数的变化。其中，处理当日（记为第 1 天）的 RET 通道粒子数记为 100%，结果如表 3 和表 4 所示，其中表 3 和表 4 的山羊红细胞的来源不同。

20

表 3

单宁酸浓度 (mg/L)	第 1 天	第 4 天	第 6 天	第 8 天
-----------------	-------	-------	-------	-------

25	100%	98%	81%	56%
37.5	100%	86%	60%	36%
50	100%	74%	63%	31%
75	100%	63%	44%	21%

表 3 示出了处理后第 4、6 和 8 天，所制备的血小板模拟粒子的 RET 通道粒子数相对于第 1 天的百分比。可见，单宁酸的反应浓度为 25mg/L、37.5mg/L、50mg/L 和 75mg/L 的情况下，所制备的血小板模拟粒子均有较好的稳定性，其中 25mg/L 和 37.5mg/L 时稳定效果更佳，25mg/L 时取得最佳的稳定效果。

表 4

单宁酸浓度 (mg/L)	第 1 天	第 4 天	第 5 天
5	100%	80%	72%
15	100%	89%	72%

表 4 示出了处理后第 4 和 5 天，所制备的血小板模拟粒子的 RET 通道粒子数相对于第 1 天的百分比。可见，单宁酸的反应浓度为 5mg/L 和 15mg/L 的情况下，所制备的血小板模拟粒子均有较好的稳定性，其中 15mg/L 时稳定效果更佳。

因此，本发明优选采用反应浓度为 15mg/L 至 25mg/L 的单宁酸对动物红细胞进行固定处理。

实施例 8

采用实施例 6 方案 A 中血小板模拟粒子制备方法，其中戊二醛的反应浓度调整为 0.0125 v/v% 和 0.025 v/v%，以考察戊二醛的不同反应浓度对所制备的血小板模拟粒子溶血情况的影响。

使用血液细胞分析仪分别对使用上述不同浓度戊二醛所制备的含网织红细胞的血小板模拟粒子进行检测，其 DIFF 通道上的侧向散射光-荧光散点图分别如图 6A 和图 6C 所示，其 RET 通道上的荧光-前向散射光散点图分别如图 6B 和图 6D 所示

由图 6A 可知，当使用反应浓度为 0.0125 v/v% 的戊二醛进行固定处理时，所制备的血小板模拟粒子在 DIFF 通道中基本上完全溶血，不会对白细胞分群造成影响，而且由图 6B 可知该血小板模拟粒子在 RET 通道上是稳定的；而由图 6C 和 6D 可知，当使用反应浓度为 0.025 v/v% 的戊二醛进行固定处理时，虽然所制备的血小板模拟粒子在 RET 通道上是稳定的，但在 DIFF 通道中出现了未完全溶血情况，出现了大量血影，可能会

导致白细胞分群的检测结果不准确。

因此，本发明优选采用反应浓度小于 0.025 v/v%的戊二醛对动物红细胞进行固定处理。

权利要求书

1、一种制备血小板模拟粒子的方法，其中，使用三氟甲基类化合物对动物红细胞进行修饰处理，以制成能结合荧光染料的血小板模拟粒子。

2、根据权利要求 1 所述的方法，其中，所述三氟甲基类化合物为被至少一个三氟甲基取代的醛和/或被至少一个三氟甲基取代的酸。

3、根据权利要求 2 所述的方法，其中，被至少一个三氟甲基取代的醛的结构如式 I 所示：



被至少一个三氟甲基取代的酸的结构如式 II 所示：



其中， R_1 和 R_2 各自为 H、 C_1-C_4 烷基、 C_6-C_{10} 芳基、 C_7-C_{10} 苯烷基和 C_7-C_{10} 烷基苯基。

4、根据权利要求 1~3 中任一项所述的方法，其中，所述三氟甲基类化合物选自对三氟甲基苯甲醛、2,4-二三氟甲基苯甲醛、对三氟甲基苯甲酸、三氟乙酸和三氟乙醛所组成的组。

5、根据权利要求 1~4 中任一项所述的方法，其中，在使用三氟甲基类化合物对动物红细胞进行修饰处理之前或之后，使用固定剂对所述动物红细胞进行固定处理。

6、根据权利要求 5 所述的方法，其中，所述使用固定剂对所述动物红细胞进行固定处理的步骤包括：使用醛类对所述动物红细胞进行固定处理；

20 优选地，所述醛类选自由以下项所组成的组中的一种或多种：多聚甲醛、甲醛、丙烯醛、丙二醛、戊二醛和己二醛，所述醛类尤其包括戊二醛；

优选地，所述醛类的反应浓度为 0.0075 v/v%~0.025 v/v%、优选为 0.01 v/v%~0.0125 v/v%。

7、根据权利要求 6 所述的方法，其中，所述使用固定剂对所述动物红细胞进行固定处理的步骤还包括：使用单宁酸对所述动物红细胞进行固定处理；

25 优选地，所述单宁酸的反应浓度为 5mg/L~75mg/L、优选为 15mg/L~37.5mg/L、更优选为 15mg/L~25mg/L。

8、一种制备血小板模拟粒子的方法，其中，使用单宁酸和醛类对动物红细胞进行固定处理，以制成血小板模拟粒子。

9、根据权利要求 8 所述的方法，其中，所述醛类选自由以下项所组成的组中的一种或多种：多聚甲醛、甲醛、丙烯醛、丙二醛、戊二醛和己二醛，所述醛类尤其是包括戊二醛；

优选地，所述醛类的反应浓度为 0.0075 v/v%~0.025 v/v%、优选为 0.01 v/v%~0.0125v/v%。

10、根据权利要求 8 或 9 所述的方法，其中，所述单宁酸的反应浓度为 5mg/L~75mg/L、优选为 15mg/L~37.5mg/L、更优选为 15mg/L~25mg/L。

11、根据权利要求 8 至 10 中任一项所述的方法，其中，所述使用单宁酸和醛类对所述动物红细胞进行固定处理的步骤包括：

10 先使用单宁酸对所述动物红细胞进行固定处理，然后使用醛类对所述动物红细胞进行固定处理；或者

先使用醛类对所述动物红细胞进行固定处理，随后使用单宁酸对所述动物红细胞进行固定处理。

12、根据权利要求 8 至 11 中任一项所述的方法，其中，所述方法还包括：

15 在所述固定处理之前或之后，对所述动物红细胞进行修饰处理，以使得所述动物红细胞能在血小板检测通道中产生荧光信号。

13、根据权利要求 12 所述的方法，其中，所述对动物红细胞进行修饰处理，以使得所述动物红细胞能在血小板检测通道中产生荧光信号的步骤包括：

20 使用三氟甲基类化合物对所述动物红细胞进行修饰处理，以使得所述动物红细胞能结合荧光染料，或者

使用荧光染料对所述动物红细胞进行染色处理。

14、根据权利要求 13 所述的方法，其中，所述三氟甲基类化合物为被至少一个三氟甲基取代的醛和/或被至少一个三氟甲基取代的酸。

25 15、根据权利要求 15 所述的方法，其中，被至少一个三氟甲基取代的醛的结构如式 I 所示：

$R_1\text{-CHO}$ (I)；

被至少一个三氟甲基取代的酸的结构如式 II 所示：

$R_2\text{-COOH}$ (II)；

30 其中， R_1 和 R_2 各自为 H、 $C_1\text{-C}_4$ 烷基、 $C_6\text{-C}_{10}$ 芳基、 $C_7\text{-C}_{10}$ 苯烷基和 $C_7\text{-C}_{10}$ 烷基苯基。

16、根据权利要求 15 所述的方法，其中，所述三氟甲基类化合物选自对三氟甲基苯甲醛、2,4-二三氟甲基苯甲醛、对三氟甲基苯甲酸、三氟乙酸和三氟乙醛所组成的组。

17、根据权利要求 1 至 16 中任一项所述的方法，其中，所述动物红细胞源自哺乳动物，优选源自山羊或绵羊。

5 18、一种血小板模拟粒子，所述血小板模拟粒子根据权利要求 1 至 17 中任一项所述的方法所制备。

19、一种用于血液分析仪的质控物或校准物，其中，所述质控物或校准物含有根据权利要求 18 所述的血小板模拟粒子。

20、根据权利要求 19 所述的质控物或校准物，其中，所述质控物或校准物还含有
10 白细胞模拟粒子、红细胞模拟粒子和有核红细胞模拟粒子中的至少一种。

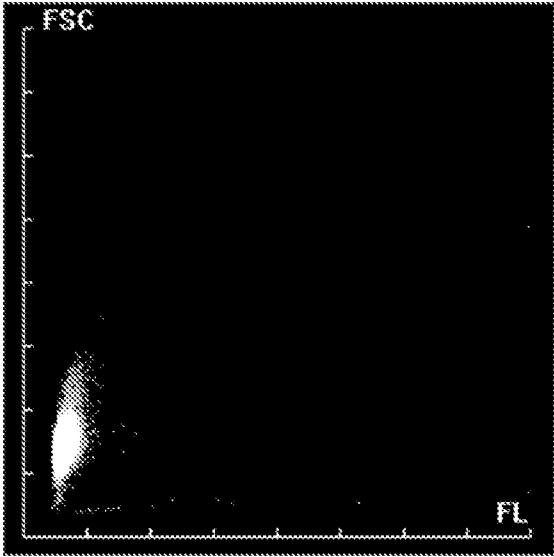


图 1A

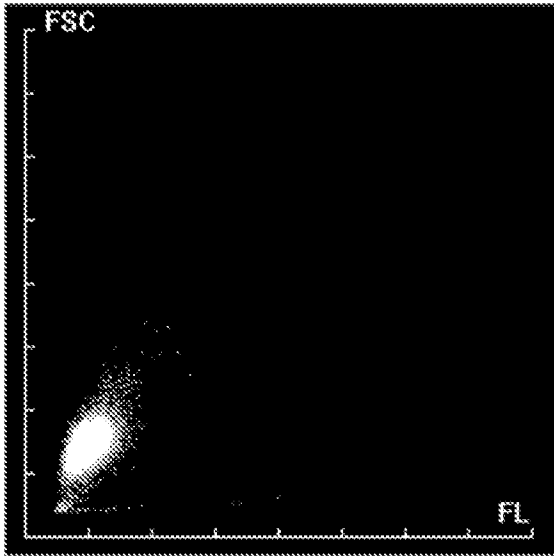


图 1B

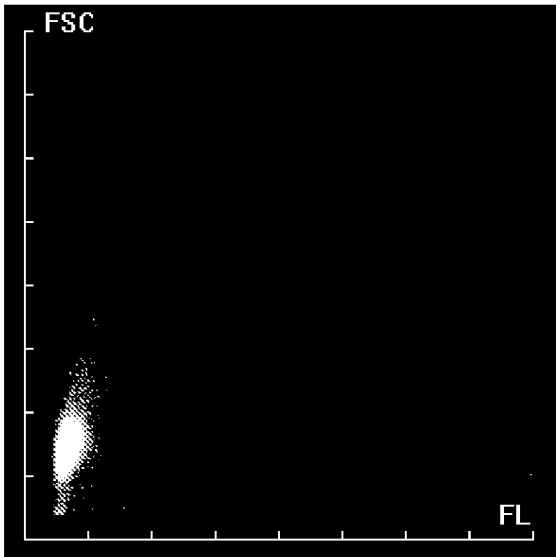


图 2A

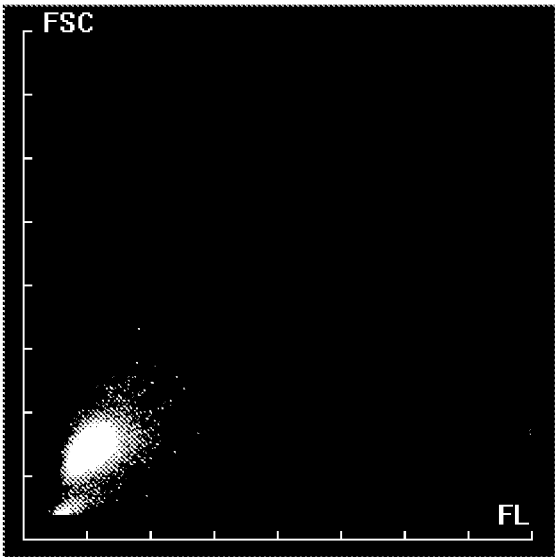


图 2B

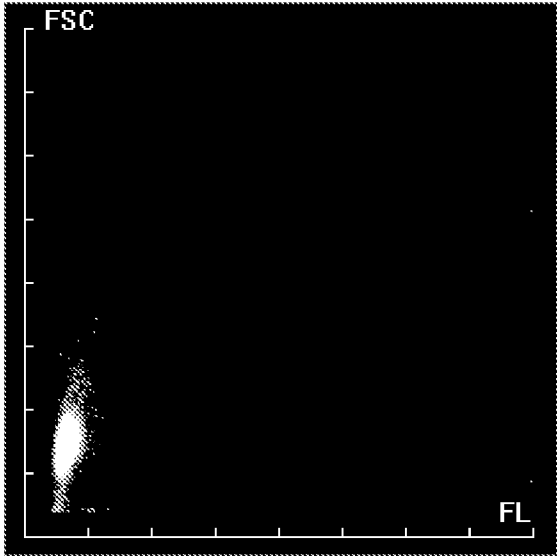


图 3A

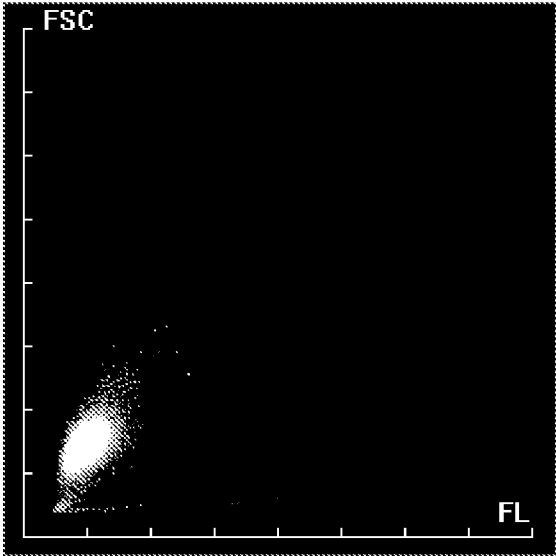


图 3B

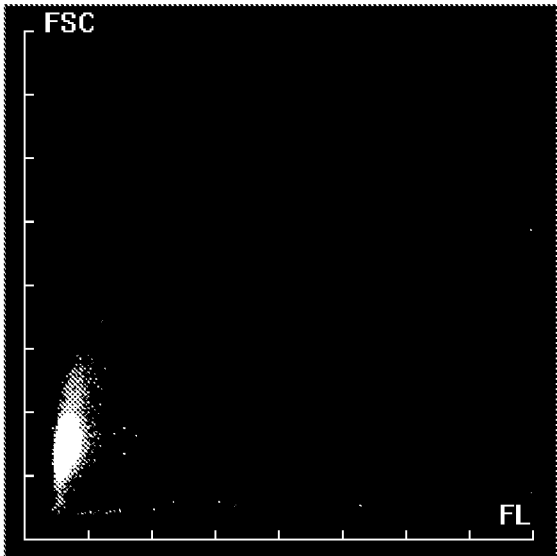


图 4A

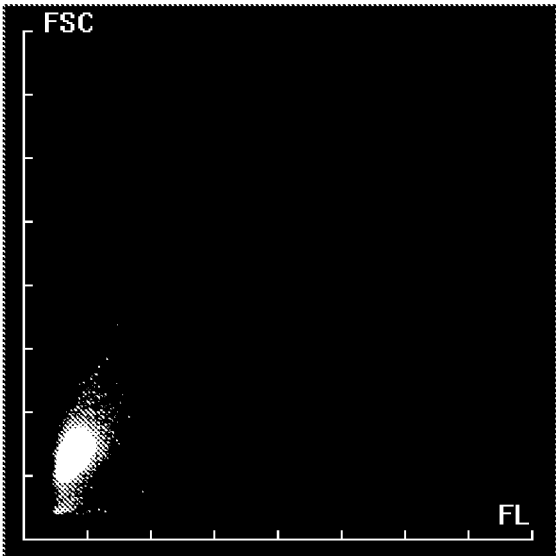


图 4B

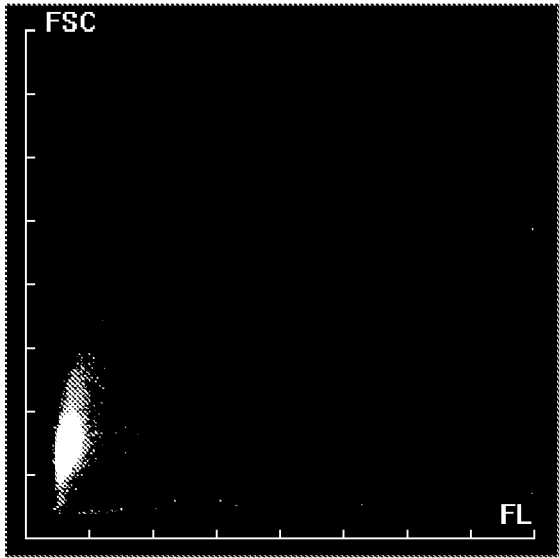


图 5A

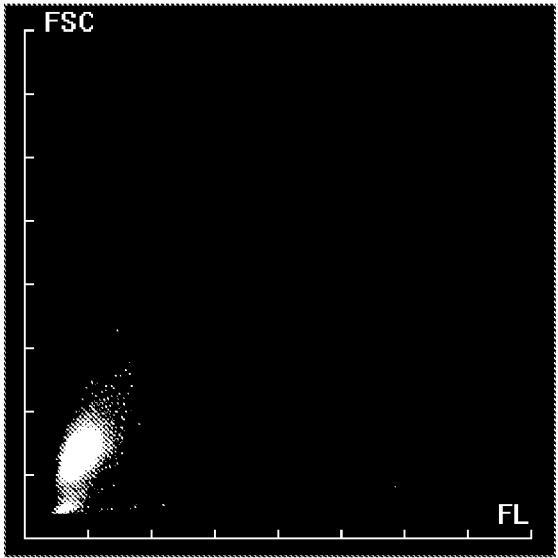


图 5B

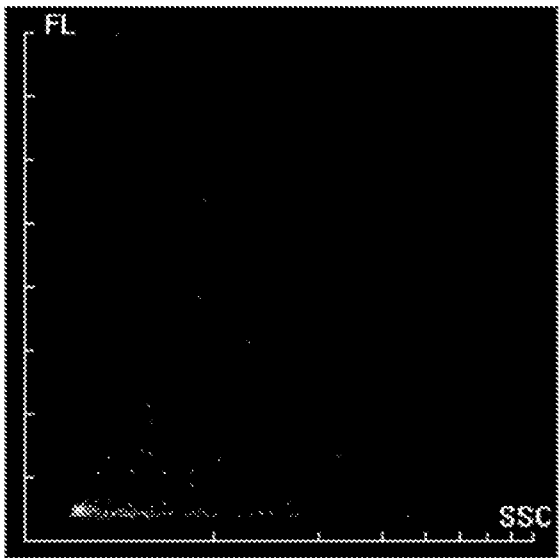


图 6A

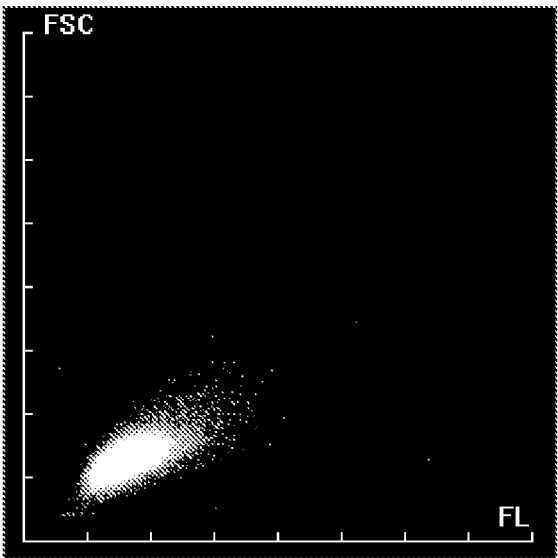


图 6B

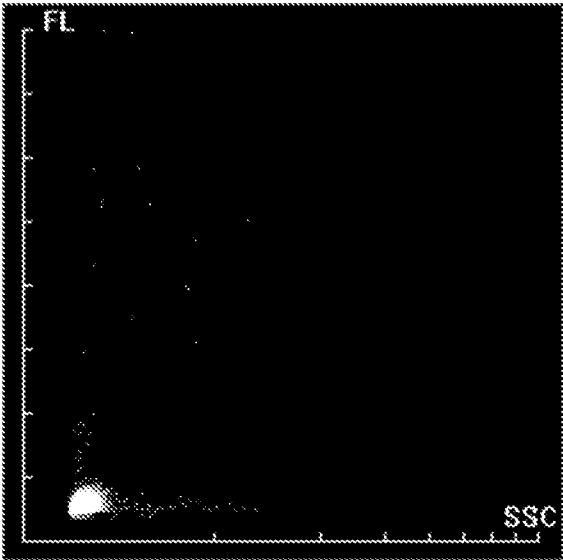


图 6C

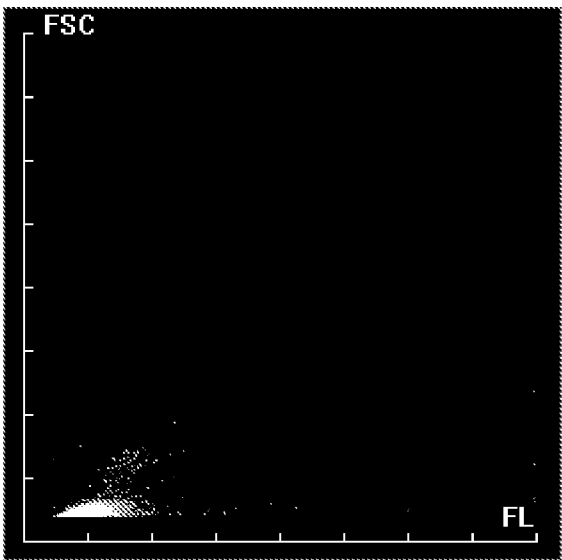


图 6D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/123638

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/49(2006.01)i; G01N 33/96(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)

CNABS, VEN, CNTXT, EPTXT, USTXT, WOTXT, CNKI, 百度搜索, Baidu Xueshu Search, ISI-WEB OF SCIENCE, 血小板, Blood platelet, 三氟甲基, Trifluoromethyl, 荧光, Fluorescen, Fluorescence, 固定剂, fix+, 单宁酸, Tannic acid, 醛, aldehyde, 红细胞, Red blood cell

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 103454410 A (GUILIN URIT MEDICAL ELECTRONIC CO., LTD.) 18 December 2013 (2013-12-18) claims 1-9	8-12, 17-20
A	US 5008201 A (STRECK LABORATORIES, INC.) 16 April 1991 (1991-04-16) claims 1-5	1-20
A	US 4179398 A (ICN MEDICAL LABORATORIES INC.) 18 December 1979 (1979-12-18) claims 1-5	1-20
A	CN 1891230 A (SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.) 10 January 2007 (2007-01-10) claims 1-10	1-20
Y	CN 1096375 A (SHANGHAI BLOOD CENTER) 14 December 1994 (1994-12-14) claim 1	8-12, 17-20
Y	CN 104977284 A (SHI, Ying) 14 October 2015 (2015-10-14) claim 1	12, 17-20

☐ 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

14 September 2019

Date of mailing of the international search report

20 September 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

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

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2018/123638

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)
CN	103454410	A	18 December 2013	CN	103454410	B 15 April 2015
US	5008201	A	16 April 1991	None		
US	4179398	A	18 December 1979	None		
CN	1891230	A	10 January 2007	None		
CN	1096375	A	14 December 1994	None		
CN	104977284	A	14 October 2015	CN	104977284	B 29 May 2018

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2018/123638

A. 主题的分类 G01N 33/49(2006.01)i; G01N 33/96(2006.01)i 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		
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) G01N 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 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)) CNABS, VEN, CNTXT, EPTXT, USTXT, WOTXT, CNKI, 百度学术搜索, ISI-WEB OF SCIENCE, 血小板, Blood platelet, 三氟甲基, Trifluoromethyl, 荧光, Fluorescen, Fluorescence, 固定剂, fix+, 单宁酸, Tannic acid, 醛, aldehyde, 红细胞, Red blood cell		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN 103454410 A (桂林优利特医疗电子有限公司) 2013年 12月 18日 (2013 - 12 - 18) 权利要求1-9	8-12, 17-20
A	US 5008201 A (STRECK LAB) 1991年 4月 16日 (1991 - 04 - 16) 权利要求1-5	1-20
A	US 4179398 A (ICN MEDICAL LAB INC) 1979年 12月 18日 (1979 - 12 - 18) 权利要求1-5	1-20
A	CN 1891230 A (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司) 2007年 1月 10日 (2007 - 01 - 10) 权利要求1-10	1-20
Y	CN 1096375 A (上海市血液中心) 1994年 12月 14日 (1994 - 12 - 14) 权利要求1	8-12, 17-20
Y	CN 104977284 A (石莹) 2015年 10月 14日 (2015 - 10 - 14) 权利要求1	12, 17-20
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。		
* 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		
国际检索实际完成的日期 2019年 9月 14日		国际检索报告邮寄日期 2019年 9月 20日
ISA/CN的名称和邮寄地址 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 传真号 (86-10)62019451		受权官员 李慧 电话号码 010-62411620

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2018/123638

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	103454410	A	2013年 12月 18日	CN 103454410 B	2015年 4月 15日
US	5008201	A	1991年 4月 16日	无	
US	4179398	A	1979年 12月 18日	无	
CN	1891230	A	2007年 1月 10日	无	
CN	1096375	A	1994年 12月 14日	无	
CN	104977284	A	2015年 10月 14日	CN 104977284 B	2018年 5月 29日