



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101252994 B

(45) 授权公告日 2011.04.13

(21) 申请号 200680031258.1

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2006.06.30

B01L 3/00 (2006.01)

G01N 15/14 (2006.01)

(30) 优先权数据

60/696,162 2005.07.01 US

(56) 对比文件

US 2002182627 A1, 2002.12.05, 全文.

US 6712925 B1, 2004.03.30, 第 1, 3, 10 栏以及附图部分.

(85) PCT 申请进入国家阶段日

2008.02.26

(86) PCT 申请的申请数据

PCT/US2006/026211 2006.06.30

审查员 王东升

(87) PCT 申请的公布数据

WO2007/005973 EN 2007.01.11

(73) 专利权人 霍尼韦尔国际公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 J · A · 科克斯 A · 帕马纳布汉

R · L · 巴德尔 C · J · 津斯

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

72001

代理人 曾祥菱 刘华联

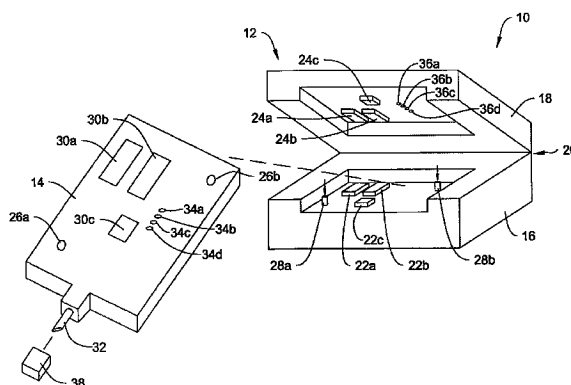
权利要求书 2 页 说明书 15 页 附图 31 页

(54) 发明名称

用于红血细胞分析的微流体卡

(57) 摘要

一种用于全血计数的微流体回路试样盒, 包括对红血球的分析。可获得红血球的各种参数。这种试样盒可具有球化机构, 这种球化机构具有通道或环路, 这种通道或环路带有用于减少或消除细胞沉淀的构造。这种通道或环路可在重力环境中结合直的和弯曲的路径的组合。这种通道还可具有亲水或疏水内表面。这种通道或者还可具有可电润湿内表面。或者, 这种通道可经受电场或磁场。还可具有用于减少或消除试样的凝集的机构。



1. 一种流体分析仪系统，包括：
用于提供试样的血球计数的微流体回路，所述微流体回路包括：
剪切机构；
连接到所述剪切机构的球化机构；
防护机构；
连接到所述球化机构和防护机构的液力集中室；和
连接到所述液力集中室的光学通道，用于至少部分地获得血球计数；以及
其中，
所述球化机构包括用于球化红血球的第一通道；
所述剪切机构包括第二通道，所述第二通道与第三通道连接而形成 T 型结，用于向所述第三通道内提供血而在所述第三通道内的壁产生所述血的剪切，以便接近消除血球的凝集；
所述第一通道连接到所述第三通道；且
所述流体分析仪系统是血液学分析仪。
2. 如权利要求 1 所述的系统，其特征在于，所述第一通道穿过通孔连接至所述微流体回路中的第二通道；并且
所述第一通道和第二通道具有连接至所述通孔的端部，所述端部与所述通孔的大小大约相同，以便减少气泡的出现。
3. 如权利要求 1 所述的系统，其特征在于，所述第一通道具有连续路径，所述连续路径在第一距离大致是直的、在第二距离大约在 90 度与 270 度之间弯曲且在第三距离大致是直的；并且
其中，
所述第一通道位于力场中。
4. 如权利要求 1 所述的系统，其特征在于，所述第一通道包括：
第一区段；
第二区段，连接至所述第一区段；
第三区段，连接至所述第一区段；
第四区段，连接至所述第二区段和所述第三区段；
所述第二区段顺次地以第一方向和第二方向弯曲；
所述第三区段顺次地以所述第二方向和所述第一方向弯曲；
所述第一通道位于力场中；并且
所述第一通道具有伸长的尺寸，所述伸长的尺寸大致垂直于所述力场的方向。
5. 如权利要求 1 所述的系统，其特征在于，所述第一通道包括：
内表面；并且
其中，所述内表面是亲水性的。
6. 如权利要求 1 所述的系统，其特征在于，所述第一通道包括：
内表面；并且
其中，所述内表面是可电润湿表面。
7. 如权利要求 1 所述的系统，其特征在于，所述第一通道包括第一端部和第二端

部；

所述第一通道经受电场或磁场；并且

所述第一通道具有伸长的尺寸，所述伸长的尺寸大致垂直于所述电场或磁场的方向。

8. 一种血液学分析仪，包括：

微流体回路，用于提供试样的血球计数；并且其中，

所述血球计数包括红血细胞 (RBC) 计数、血小板计数、红血细胞平均细胞体积的确定、白血细胞 (WBC) 的多部分微分计数和、或基于血色素吸收的测量；并且，

所述微流体回路包括：

剪切机构；

球化机构，连接到所述剪切机构上；以及

第一通道，所述第一通道穿过通孔连接至所述微流体回路中的第二通道，其中，所述第一通道和第二通道具有连接至所述通孔的端部，所述端部与所述通孔的大小大约相同，以便减少气泡的出现。

用于红血细胞分析的微流体卡

[0001] 本发明要求享有于 2005 年 7 月 1 日递交的美国临时专利申请 No.60/696,162 的优先权。因此，于 2005 年 7 月 1 日递交的美国临时专利申请 No.60/696,162 通过引用结合在本发明中。

技术领域

[0002] 本发明涉及分析仪，尤其涉及血液学分析仪。更明确地来讲，本发明涉及带有可拆卸卡 (card) 或试样盒 (cartridge) 的分析仪。

背景技术

[0003] 与本发明有关的专利和申请可包括：于 2002 年 5 月 7 日公告的发明名称为“Fluid Driving System for Flow Cytometry”的美国专利 No.6,382,228、于 2003 年 7 月 22 日公告的发明名称为“Portable Flow Cytometry”的美国专利 No.6,597,438、于 2005 年 11 月 29 日公告的发明名称为“Optical Alignment Detection System”的美国专利 No.6,970,245、于 2003 年 4 月 15 日公告的发明名称为“Optical Detection System for Flow Cytometry”的美国专利 No.6,549,275、于 1998 年 11 月 17 日公告的发明名称为“Electrostatically Actuated Mesopump Having a Plurality of Elementary Cells”的美国专利 No.5,836,750、于 2004 年 12 月 30 日递交的发明名称为“Optical Detection System with Polarizing Beamsplitter”的美国专利申请 No.11/027,134、于 2005 年 5 月 16 日递交的发明名称为“Cytometry Analysis Cartridge Optical Configuration”的美国专利申请 No.10/908,543 和于 2005 年 4 月 25 日递交的发明名称为“A Flow Control System of a Cartridge”的美国专利申请 No.10/908,014，所有的这些专利和专利申请通过引用结合在本发明中。

发明内容

[0004] 本发明描述了一种用于作为血球计数测量的一部分的一些红血球指数的测量的微流体卡系统。该系统可包括微流体结构，以减少或消除试样凝集和、或微粒沉淀。

附图说明

- [0005] 图 1a 是血液学分析系统的视图；
- [0006] 图 1b 是分析系统的示范性红血球试样盒或卡的视图；
- [0007] 图 2a 和图 2b 表明重力对通道内微粒的影响和相对于重力的通道方向；
- [0008] 图 3 是分析卡的分解图；
- [0009] 图 4 至图 12 示出了分析卡的某些层；
- [0010] 图 13 示出了卡上的器件的布局；
- [0011] 图 14 至图 18 指明了用于卡上的红血球分析的流体运动；
- [0012] 图 19 指明了一些临界测量公差的位置；
- [0013] 图 20 是卡的层尺寸表；

- [0014] 图 21 是试样的稀释和球化规范表；
- [0015] 图 22 是用于试样和稀释泵的控制模式的曲线图；
- [0016] 图 23 示出了具有稀释流速、细胞并发和溶液存储参数的表；
- [0017] 图 24 是用于 RBC 试样的球化 RBC 溶液的两级推进期间试样和稀释泵的控制模式的曲线图；
- [0018] 图 25 示出了具有稀释流速、细胞并发和溶液存储参数的表；
- [0019] 图 26 是红血球球化通道的图示；
- [0020] 图 27 示出了在球化溶液的通道内的血液的截面；
- [0021] 图 28 示出了用于减少气泡的通道和中间接触面的各种设计；
- [0022] 图 29 至图 34 是球化通道的各种构造，这些球化通道具有抗沉淀或抗累积特征；
- [0023] 图 35 示出了用于减少试样的凝集的结；以及
- [0024] 图 36 是修剪和球化机构的框图。

具体实施方式

[0025] 本发明通常涉及试样分析仪，尤其涉及带有可拆卸和、或可拆解试样盒的试样分析仪或血细胞计数器，这些试样盒用在患者护理场合，如在医生的办公室、在家庭或在野外的任何地方。通过提供带有所需的试剂和、或流体的可拆卸和、或可拆解试样盒或卡，就可在实验室环境以外可靠地使用试样分析仪，且仅需很少或不需专业培训。例如，这种分析仪可有助于简化试样分析过程、降低医务人员或其它人员的成本和负担，并提高用于许多患者的试样分析的方便程度，这些患者包括要求相对频繁的血液监测/分析的患者。

[0026] 允许微粒悬浮液试样中的快速而有效的微粒鉴别的一种方式流量血细胞计数器。在这种方式中，穿过流通道输送微粒悬浮液，这种微粒通常是血液试样中的细胞，在流通道中，用一个或多个聚焦光束照射试样中的单个微粒。一个或多个光束与流过流通道的单个微粒的相互作用由一个或多个光探测器探测。通常将这些探测器设计成测量以特定波束或发射波长的光吸收或荧光和、或以特定散射角的光散射。因此，就一个或多个特性而言，穿过流通道的每个微粒可具有与其吸收、荧光、光散射或其它光学或电气属性有关的特征。由探测器测量的这些属性可允许将每个微粒绘制成特性空间，这种特性空间的轴是由探测器测量的光强度或其它属性。在理想情况下，试样中不同的微粒可绘制成特性空间的独特的和非重叠区域，并允许在每个微粒在特性空间中的映射的基础上对每个微粒进行分析。这种分析可包括这些微粒的计数、识别、量化（就一个或多个物理特征而言）和、或分类。

[0027] 在一个说明性示例中，可有一种试样分析仪，所提供的这种试样分析仪具有可拆卸试样盒，这种试样盒接收所采集的试样，如采集的全血试样，且一旦将这种可拆卸试样盒安装并将这种分析仪启动，分析仪和试样盒就自动对试样进行处理，且分析仪可提供足够的信息，以使用户做出临床决定。在一些示例中，这种分析仪可显示出或打印出量化结果（如预定范围之内和、或之外），以使用户对其它计算或说明没有要求。

[0028] 试样分析仪可用于如确定血样中的血细胞的数量和、或类型。在一种说明性示

例中,这种分析仪包括外壳和可拆卸流体试样盒,其中,外壳适合于容纳可拆卸流体试样盒。在一些情形中,可拆卸流体试样盒是可抛弃的试样盒。在说明性示例中,这种可拆卸流体试样盒可包括一种或多种试剂(如球化剂、溶解剂、防护剂、着色剂和、或稀释剂)、一个或多个分析通道、一个或多个流量传感器、一个或多个阀门和、或一种流体回路,这种流体回路适于处理(如球化、溶解、防护、着色或其它)试样并将经过处理的一个或多个试样输送到试样盒上适当的分析通道。为了支持这种卡,该外壳可包括如压力源、一个或多个光源、一个或多个光探测器、处理器和电源。这种压力源可向可拆卸流体试样盒端口提供适当的压力,以按照要求驱动流体穿过流体回路。分析仪的一个或多个光源可用于在可拆卸试样盒的至少一个已选分析通道内讯问已制备的试样,且分析仪的一个或多个光探测器可探测经过的光、由试样所吸收的和、或由试样所散射的光。这种处理器可接合到这些光源和光探测器中的至少一些,并可能接合到流量传感器、阀门和、或泵,并且可确定试样的一个或多个参数。在一些说明性示例中,在可拆卸流体试样盒上的一个或多个分析通道可包括一个或多个流血细胞计数器通道。在一些说明性示例中,可将全血试样提供给可拆卸流体试样盒,且这种可拆卸流体试样盒可适合于进行血液分析。

[0029] 本系统可提供基于微尺度流血细胞计数器的完整血球计数(CBC)卡,这种卡用于获得以下项目中的一种或多种,这些项目包括红血细胞(RBC)计数、球化RBC、血小板计数、RBC溶解、RBC中间细胞体积确定、白血细胞(WBC)的多部分微分计数、基于血色素吸收的测量;RBC、血小板、WBC、血色素等的其它各种指数,再加上液力聚集以产生单行细胞流,以及气动流体驱动系统。其它的项目可由这种系统提供和、或是这种系统的一部分。

[0030] 为了获取用于功能度测试的卡,可使用用于测试RBC和血小板的测度和计数的卡。这种卡可采用与流体的湿接触面,这些流体由基于体积的从离卡试剂存贮器和流量传感器的输送提供。所保留的唯一卡上存贮器可以是废物存储器和整个血液试样环路。

[0031] 图1a是说明性试样分析仪和试样盒的透视图。通常用10表示说明性试样分析仪,说明性试样分析仪10可包括外壳12和可拆卸或可抛弃的(disposable)试样盒14。试样盒或卡14可用于如带有在本发明中所指出的抗沉积通道的红血球计数(RBC)。说明性外壳12可包括基部16、盖18和铰链20,铰链20将基部16连接到盖18上,但对此不做要求。在说明性示例中,基部16包括第一光源22a、第二光源22b和第三光源22c以及关联的光学装置和用于试样分析仪的运行的必要电子装置。根据用途,这些光源中的每一个可以是单光源或多光源。在一些情形中,根据要求,外壳的总体尺寸可小于1立方英尺、小于二分之一立方英尺、小于四分之一立方英尺或更小。同样,根据要求,外壳的总体重量可小于10磅、小于5磅、小于1磅或更小。

[0032] 说明性盖12可包括压力源(如带有控制微阀的压力室)、第一光探测器24a、第二光探测器24b和第三光探测器24c,每个光探测器带有关联的光学装置和电子装置,如处理器。根据用途,这些光探测器中的每一个也可以是单光探测器或多光探测器。根据用途,若有要求,还可提供偏光镜、分光镜和、或滤光镜。

[0033] 说明性可拆卸试样盒14可适合于通过试样采集端口接收试样流体,在说明性示例中,这种试样采集端口包括刺血针32。正如在一些示例中那样,刺血针32可伸缩和、

或弹簧加载。帽 38 可用于在不使用可拆卸试样盒 14 时保护试样采集端口和、或刺血针 32。

[0034] 在说明性示例中，可拆卸试样盒 14 可在整个血液试样上进行血液分析。刺血针 32 可用于刺破用户的手指以产生血液试样，可通过毛细管作用将血液试样吸入可拆卸试样盒 14 中的涂有抗凝血剂的毛细管。可将可拆卸试样盒 14 构造成带有流体回路 (fluidic circuit)，这些流体回路中的一些用带有蚀刻通道的层压结构制成。不过，还构思出的是，根据要求，可用任何适当的方式包括通过注模或其它任何适当的制造工艺或方法来构造可拆卸试样盒 14。

[0035] 在使用期间并且在已将血液试样吸入可拆卸试样盒 14 中之后，可将可拆卸试样盒 14 插入外壳中，此时，盖 18 处于打开位置。在一些情形中，可拆卸试样盒 14 可包括用于容纳基部 16 中的配准销 28a 和 28b 的孔 26a 和 26b，这些孔可有助于提供仪器的不同部件之间的对齐和接合。可拆卸试样盒 14 还可包括第一透明流动流窗口 30a、第二透明流动流窗口 30b 和第三透明流动流窗口 30c，这些出口分别与第一光源、第二光源和第三光源 22a、22b 和 22c 以及第一光探测器、第二光探测器和第三光探测器 24a、24b 和 24c 对齐。

[0036] 在将盖移到关闭位置且系统受压时，盖 18 可通过压力提供端口 36a、36b、36c 和 36d 提供受控压力，以将说明性可拆卸试样盒 14 中的压力接收端口 34a、34b、34c 和 34d 分别增压。还构思出的是，可根据用途使用更多或更少的压力提供和压力接收端口。作为备选或作为附加，还构思出的是，可将一个或多个微型泵如静电致动微泵设在可拆卸试样盒 14 上面或内部，以提供运行可拆卸试样盒 14 上的流体回路所必需的压力。美国专利 Nos.5,836,750、6,106,245、6,179,586、6,729,856 和 6,767,190 描述了一些说明性静电致动微泵，所有的这些专利转让给本发明的受让人并通过引用结合在本发明中。一旦受压，说明性仪器就可在采集的血液试样上进行血液分析。

[0037] 图 1b 是示出了说明性示例 RBC 试样盒或卡 14 的一些方面的视图。一个试样可以整个血液 11 的试样开始至试样采集器 13。可将血液推到蝶式喷射器 (fly injector) 15 上的球体上。用于推动试样并且也用于球化和防护流体的流速可由泵机构或流速控制盒 17 提供。用于蝶式喷射器 15 上的球体的球化流体可来自球化溶液储器 19。溶液和血液可继续穿过球化通道 21 而到达集中室 23。防护流体可从防护储器 25 流到该液力集中室 23，以帮助单行 27 中的已球化的红血球穿过光学通道 29 对齐，以用于探测和分析。在这些红血球已穿过光学通道 29 之后，这些红血球和流体流到废物存储器 31。

[0038] 这种系统可用于对细胞 (如 RBC、PLT 等) 进行计数和鉴别并利用光学感测测量血细胞计数器中的细胞大小 (直径、体积)。可将激光 (或其它) 源作为伸长线源或作为两个分离点源集中到血细胞计数器或流通道内。可使这些细胞穿过集中的光在血细胞计数器通道内流动。

[0039] 可在血液试样上用光学方式获得几个主要的或重要的参数 (如指数)、红血球 (RBC) 计数 (细胞 / μ L)、血小板 (PLT) 计数 (细胞 / μ L)、平均细胞体积 (MCV) 和红血球分布宽度 (RDW)。MCV 是 RBC 的平均大小的有效测度。RDW 是 RBC 之间的大小变化。RBC 的大小变化越大，RDW 就越大。

[0040] RBC 计数是每单位体积进行分析的血液的实际 RBC 数量。Hct 是 RBC \times MCV

的血细胞比容，并且等于血液的氧承载量的测度（即进行分析的单位体积中所有细胞的总量）。Hct 还可由认为是 RBC 在血液中所占据的空间量，或者是由红血球组成的整个血液的比例。MCH 是“平均细胞血红蛋白”，这种“平均细胞血红蛋白”是每个 RBC 中的血红蛋白的有效量。MCH 可以认为是平均或近似的单个 RBC 中的血红蛋白的平均质量，以皮克 (picogram) 为单位。MCH = Hb ÷ RBC。Hb 是进行分析的每单位体积的试样的血红蛋白量。MCHC 是“平均细胞血红蛋白浓度”，这种“平均细胞血红蛋白浓度”可以认为是每个 RBC 中每单位体积的血红蛋白的浓度。MCHC = Hb ÷ Hct。

[0041] 系统可通过控制电子装置或处理器主要从光学技术提供包括一组经过测量的参数的信息，这些参数包括细胞流速 (FR)、测量时间 (T)、稀释因子 (DF)、所计数的 RBC 的数量 (N_{RBC})、所计数的血小板的数量 (N_{PLT})、血红蛋白量 (Hb) 和实际上是每个细胞 i 的直径 ($drbc_i$) (微米)。 $\langle drbc_i \rangle$ 是这些细胞的测得的细胞直径的平均值，这种平均值用集合 $\{drbc_i\}$ 表示。一些经过计算的主要参数可包括： $RBC = N_{RBC} \div (DF \times FR \times T)$ ； $PLT = N_{PLT} \div (DF \times FR \times T)$ ； $MCV = (\pi/6) \times \langle drbc_i^3 \rangle$ ；以及 $RDW = SD\{[(\pi/6) \langle drbc_i^3 \rangle] \div MCV$ ，其中，SD 表示所测得的标准偏差。经过计算的参数可包括： $Hct = RBC \times MCV$ ； $MCHC = Hb \div Hct$ ；以及 $MCH = MCHC \times MCV$ 。

[0042] 血液试样可流到试样制备模块上。可将红血球从非球形形状转变成球形形状。红血球的最初形状往往是平坦的杯形形状。可将这种重新塑形称为等容球化。球化流体可用于将红血球的形状重新塑造为球形细胞，如发明人为 Ornstein 和 Kim 的美国专利 No.4,412,004 所描述的那样。球化流体表现出仅对试样的红血球有影响。

[0043] 这些方式中的一种涉及红血球计数 (RBC) 卡。所关注的一种事情是获得流体流速和流体通道内红血球的分布的精确控制。一种有帮助的特性可以是系统劲度。若系统具有非常低的机械和流体一致性，则可获得良好的流速控制，即便是流量传感器离开卡时也是如此。这可能会要求机械上坚硬的卡，如带有厚壁的卡。

[0044] 所关注的另一种事情是试样环路。带有由小通孔连接的小截面的通道可提供以下特性。这些特性可包括增加的流抗以增加背压、通过推送流体的试样的改进清除、通过较小通道壁的增加的机械劲度以及通过在浸湿期间挡住的气泡的大小和数量的减少的增加的流体劲度，这种增加的流抗减少试样后推。而且，小的壁粗糙度也可减少被挡住的气泡。

[0045] 在球化通道中的沉淀物理性质值得注意。红血球具有约为 1.1 的比重并在稀释的血液后立即开始沉淀。沉淀速度 U_{settling} 是流体速度、微粒大小和形状以及微粒和流体的密度的函数。例如，Newtonian 流体中硬球体的沉淀速度为

$$[0046] \quad U_{\text{settling}} = (2/9) a^2 \Delta \rho g / \mu$$

[0047] 式中， a 是球体半径， g 是重力加速度， μ 是流体速度，且 $\Delta \rho$ 是球体与周围流体之间的密度差。其它的微粒形状可具有得自于摩擦拉力与浮力的余数的不同的沉淀速度。

[0048] 在通道内的任何位置的细胞的局部数字密度可受到沉淀的影响。在血细胞计数器中，通常将微粒置于通道的中心。微粒沉积可通过挡住沿着壁的微粒对微粒计数精度造成不利影响，因此，这些微粒不会被计算在内。

[0049] 避免沉积的一种方案可包括旋转相对于重力方向的通道流方向。这种方案可允

许微粒在通道内无沉积的增加的滞留时间。无因次沉积参数 S 可由下式限定：

$$[0050] \quad S = (\delta_0/w_0) - (U_{\text{settling}}/w) \sum_i (\cos \theta_i \Delta t_i) > 0$$

[0051] 式中， δ_0 是从壁的微粒的初始距离，且 w 是变宽通道的局部宽度（图 2a 和图 2b 分别用于初始段和“i”段）。下标 0 是指在通道的开始时的初始值，且下标 $i = 0, 1, 2, \dots$ 是指以通道方向的每种变化。 Σ 符号表示关于下标 i 的每个值的在括号内的后面的量的总和。角 θ 是重力方向与垂直于壁的穿过这种微粒的线之间的坡口角度。时间 Δt_i 是作为从该壁的距离 δ 的微粒穿过通道的 i 段所花费的时间量。正 S 值可确保微粒不接触该壁。

[0052] 图 2a 和图 2b 是在流体通道的初始段和下游段“i”中的微粒的概略图，该图示出了重力方向 g 与从壁的微粒的距离 δ 之间的坡口角度 θ 。通道的宽度 w 可从一个段至另一个段以及相对于重力的通道方向变化。改变通道方向可增加微粒在通道内的允许滞留时间，而无沿着通道壁的微粒沉积。

[0053] 与球化操作（即系列稀释）有关，球化通道可由覆盖小的试样流的大的稀释流加载。然后，加载后的流体可由试样的小流分配。

[0054] 图 3 示出了 RBC 卡 40 的层 41、42、43、44、45、46、47、48 和 49，为了图示目的，将这些层相互分开。图 4、图 5、图 6、图 7、图 8、图 9、图 10、图 11 和图 12 是示出了红细胞计数器卡设计的层的尺寸图。可在光学通道 53 限定数据。可明确说明与这种数据有关的尺寸。总体公差可以在特性的 10% 之内。可在要求更严格的公差时启用特定公差。

[0055] 图 4 示出了带有堆叠在一起的层的卡 40 的平面图，且某些流体回路的细节具有以毫米 (mm) 表示的尺寸。图 5 示出了带有一些通道细节的层 42。图 6 示出了层 42 上的一些物件的细节。图 7 示出了连同一些细节的层 43。图 8 示出了带有细节的层 44，这些细节包括抗沉淀环路 51。图 9 详细地示出了几个物件，包括卡 44 的环路 51。图 10 和 11 分别示出了层 45 和 46。图 12 示出了层 47，包括废物室的一些肋片 52。

[0056] 微流体回路的许多器件可以是既长又窄的通道，这些通道的体积和截面（宽度和高度）如图 20 和图 21 中的表所示。高度尺寸可以最小并具有最严格的公差，因为它们对通道内的压力损失、沉积率和稀释速度影响最大。通道宽度和长度通常可以是标称尺寸，但体积确实需要有公差。

[0057] 图 13 揭示了 RBC 红细胞计数器卡的主要特性。试样可以是穿过端口 61 载入试样环路 65 中的全血。可分别穿过端口 63 和 64 将球化溶液和防护流体（它们可以是相同的流体）泵入该卡中。可确定这些端口的位置，以对应于测试歧管上的 O 形环连接器。可确定端口 61 的大小以匹配于用于加载血液试样的注射器针头。改进的接触面可具有歧管上的针头，这些针头刺入卡 60 上的弹性体隔膜中。这些针头的基部可压在弹性体上，从而在操作期间提供低的一致性密封。在化验之后，隔膜可以在处理卡以进行处置时自密封并避免泄漏。

[0058] 通气孔 62 可在填充废物容器时避免压力在废物容器内的形成。这种通气口 62 可具有多孔膜，这种多孔膜允许气体而不是液体通过。出于几种原因，试样环路 65 可以是既长又细的通道。一种原因可包括系统动力学。可通过增加流抗和流感应系数并通过降低试样环路通道的一致性来减少试样流对大的流（即球化溶液和防护流体）中的瞬变事

件的回应（如“后推”）。另一种原因可包括试样均匀性。试样推送流体非常有可能干净地将试样从试样环路 65 清除。若试样环路 65 是既短又宽的通道，则这种推送流体应穿过通道中心进行清除，并留下沿着壁的许多试样血液。

[0059] 可有注模形式的试样 / 稀释液喷射器。塑料膜层压形式的物理形状可以不同，但其表现出相同的运行。可从三层叠层的后沿中的孔将血液喷入周围的快速流动的稀释液（RBC 卡中的球化溶液）流中。可将这种后沿的形状确定为使血液由稀释液流立即变平并成为细带。然后，试样 / 稀释液喷射器通道可变窄成为流孔，以使流体速度增加并足以将气泡清除，在流体通道从五层变细成为一层时，可能会挡住这些气泡。可确定试样 / 稀释液喷射器 66 的取向，以将其出口置于顶部上，以在启动期间使其浮力会刺激挡住的空气离开。

[0060] 球化通道 67 可大致呈倒置的 U 形，这种形状具有宽的垂直支腿以向球化反应提供滞留时间，并且具有窄的水平支腿以减少细胞沉积，细胞沉积往往会对细胞计数精度造成不利影响。

[0061] 集中室 (focusing chamber) 68 的形式和改变可类似于试样 / 稀释液喷射器 66。稀释后的试样从该后沿喷入集中室 68 的 5 层深体内。可将这种后沿的形状确定为使更多的周围防护流体从这些侧面接近于喷射的流并将这种喷射的流压缩成窄流。液力聚集可在集中室 68 的侧面接近于光学通道 69 时而会聚时继续。至于在该试样 / 稀释液喷射器内，集中室的顶层和底层恰恰在光学通道之前从 5 层深变换至 1 层，以使此处流体速度足够地高以清除可能被挡在该区域中的气泡。可确定集中室 68 的取向，以使浮力效果会在启动期间有助于去除挡住的空气。

[0062] 可通过所使用的层压技术和光学传感器使光学通道 69 尽可能地窄和细。可通过双面带的厚度（100 微米）设定流体光学通道 69 的高度，这种双面带包括 50 微米的 PET 承载膜，这种承载膜在每个侧面带有 3M-501FL 粘合剂（25 微米）。可通过最窄的激光切割设定光学通道 69 的宽度（200 微米），这种最窄的激光切割可由 ULS™ 激光闪光管产生。若决定从绿色过滤器材料变换至用于 3 至 5 层的透明色，则可将光学通道 69 的宽度增加到 300 微米，以免从光学传感器照明的通道壁的反射。若光学通道 69 的长度是主要流约束因素并且若卡中的相应压力升高对系统动力学造成不利影响，则可将光学通道 69 的长度制得尽可能地短。模制技术可提供光学通道的制造和其它分析仪卡结构的其它设想。

[0063] 废物容器 70 的大小可确定为容纳喷入卡 60 中的所有流体的体积。废物容器 70 可具有减小一致性的脊 52，以使其在手动操作卡 60 时不作为风箱位移流体配合。废物容器 70 的入口可设计成使进入的流体并不形成将时间可变性引入流体流速中的液滴，而相反穿过侧面开放的通道向下带到废物容器的底部。

[0064] 这种卡可具有坚硬的外层，以尽可能多地降低卡中的一致性。较小的一致性意味着与外部驱动流体流速相比的内部流体流速的更高的精确度，即更高的精确度等于更好的控制。

[0065] 流速和定时以及设定程序值得注意。可在示于图 14 的 61 将全血预加载。然后，卡 60 可进入歧管。可用示于图 15 中的球化溶液浸湿球化通道 67。可像示于图 16 中的那样将集中室 68、光学通道 69 和废物容器 70 浸湿。

[0066] 两步循环可在 $t = 0$ 秒开始。在连续地用推进流体 (a) 以 $1.5 \mu\text{l}/\text{分钟}$ 的速度推动试样时, 就可用球化剂以 $450 \mu\text{l}/\text{分钟}$ 的速度将球化环路充满至端口 63 以获得全血的正确稀释, 持续时间等于 10 秒, 如图 17 所示。在端口 64 的防护流体可以 $450 \mu\text{l}/\text{分钟}$ 的速度流动, 且可对细胞进行计数, 持续时间等于 60 秒, 如图 18 所示。可重复这种两步循环, 直到将试样耗尽或将废物容器 70 充满。

[0067] 体积公差值得注意。存储流体的器件应具有特定公差。全血存储环路 65 可具有 16 微升的标称体积, 且公差介于 15 与 18 微升之间。稀释通道可具有 3 微升的标称体积, 且公差介于 2.75 与 3.3 微升之间。废物容器 70 可具有 3000 微升的标称体积, 且公差介于 2900 与 3600 微升之间。

[0068] 通道宽度公差值得注意。示于图 19 中的几个通道的宽度是严格的, 并且要求特定公差。通道壁上的粗糙度公差可以为 0.010mm (0.0004 英寸)。各种尺寸值得注意。光学通道 69 可具有 0.2 毫米的标称尺寸 71, 且公差为 ± 0.010 毫米。光学集中室 68 可具有 0.2 毫米的标称尺寸 72, 且公差为 ± 0.010 毫米。在球化通道 67 入口的尺寸 73 可具有 0.2 毫米的标称尺寸, 且公差为 ± 0.010 毫米。试样 / 稀释液喷射器 66 可具有 0.39 毫米的标称尺寸 74, 且公差为 ± 0.015 毫米。标称尺寸 75 可为 1.3 毫米, 且公差为 ± 0.050 毫米。

[0069] 层厚度公差值得注意。可有通道特性, 这些通道特性具有相对较大的一致性并带来系统动力学问题。这些区域包括试样环路、集中室和废物容器。这种一致性问题的绝大部分可通过用于层 41 和 47 的较厚材料的使用来纠正。图 20 中的表列出了卡的每个层的材料和所希望的厚度公差。这些材料和公差可基于对流体和光学性能的要求。所列出的这些公差中的一些可比通常用于 RBC 卡的一般层厚度公差严格。这是因为一般厚度公差可大于通常在微制造期间所遇到的公差。例如, 一些材料如 PMMA 具有从供应商购买的片与片之间的相对较大的厚度变化。不过, 特定的片的厚度变化通常可小得多。用特定片制成的特定批次的卡应展示出这种减少的变化。图 20 的表中的这些层厚度公差可认为作为替代并用在质量控制程序中。

[0070] 在整个要润湿的通道中, 表面能量应均匀。介于 40 至 60 达因 / cm 的总体值通常可适用于卡, 但特定卡的表面能量的均匀性应限制到几达因 / cm 。这可由这些通道的无气泡浸湿展示出来, 在这些通道中, 每个恒定的通道截面的润湿速度接近恒定。通道润湿不应展示出停顿, 这些停顿之后是润湿速度波动, 这些波动使气泡挡在锋面之后。

[0071] 品质控制应包括用于制成的卡的以下度量。每个卡应满足卡设计的主要尺寸的公差。用于光学通道中的一致性的尺寸的组合后的层 43 至 45 的厚度应为 0.008 英寸 ± 0.00023 英寸 (从百分特定公差的和的平方根)。可通过每个制造批次中任意试样卡的无气泡润湿来验证通道中均匀的表面特性。这些卡的通道应无大于 1 微米的尘埃微粒、毛发等。目的在于避免通道阻塞并避免细胞计数期间的外来体的干扰。应有粘附层的足够的粘附力, 以使 10psi 表压的卡通道的增压并不导致卡的层之间的流体泄漏。

[0072] 可有几种 RBC 试样选择。一种选择可具有基于微尺度流红细胞计数器的全血计数 (CBC) 卡, 这种微尺度流红细胞计数器包括红血球的即时溶菌、两步液力聚集和气流驱动系统。与红细胞计数器一起使用的光 / 电子试样频率可足够地快, 以容纳一种频率, 白血球 (WBC) 以这种频率到达材料通道。在相同体积的血液中有比 WBC 多三个

数量级的红细胞 (RBC)。用于不能够将全血试样流速足够地减慢以将细胞到达频率降低到目前的光 / 电子试样频率, 所以可采用几个替代 RBC 试样方案中的一个。

[0073] 可采用较快的光 / 电子试样频率。测量通道内的细胞的到达频率 f_{arrival} 可以是细胞的数量密度 ρ_N (即每体积的试样的细胞的数量) 与试样流速 Q_{sample} 的积,

$$[0074] \quad f_{\text{arrival}} = \rho_N Q_{\text{sample}} \quad (1)$$

[0075] 试样的精确分配对整个测量精度而言是至关重要的, 为了实现试样的精确分配, 可将用于试样的设计流速设定在 $Q_{\text{sample}} \geq 3 \mu\text{l}/\text{分钟} = 0.05 \mu\text{l}/\text{秒}$ 。正常全血中 RBC 的数量密度可以为 $\rho_N = 5,000,000 \text{ 细胞}/\mu\text{l}$ 。因此, 对试样频率的最低要求可以是

$$[0076] \quad f_{\text{sampling}} = f_{\text{arrival}} = 5,000,000 \times 0.05 = 250,000\text{Hz}。$$

[0077] 这比目前的 3,000Hz 的试样频率快 83 倍以上。虽然可提高试样频率, 但两个数量级的提高通常难以实现。此外, 细胞符合率可非常高, 除非将 VCSEL 照明长度 (标称值为 $20 \mu\text{m}$) 也降低两个数量级。

[0078] 可有系列操作, 这种系列操作是球化, 然后是计数。将最低试样流速要求与最大试样频率脱离的一种方案可以是以系列分批模式进行操作。在这种方式中, 可将球化溶液和血液试样扩散性混合并引导至储器。在将阀门切换以改变流路之后, 可将球化后的 RBC 溶液泵到集中室的惯用喷射端口。这种方案可容许系列稀释, 在这种系列稀释中, 以两个或更多的独立步骤进行所要求的稀释。

[0079] 可将阀门和另外的流量传感器加到 CBC 卡。其次, 这些 RBC 可具有约为 $s.g. = 1.1$ 的比重并往往会在储器中沉淀。利用正常全血中 $d = 5.5 \mu\text{m} = 0.0055\text{mm}$ 的 RBC 的平均细胞直径、 $\nu = 1\text{mm}^2/\text{秒}$ (即与水相同) 的球化溶液运动粘度和 $g = 9810\text{mm}/\text{秒}^2$ 的重力加速度, 球化后的 RBC 溶液中 RBC 的沉淀速度可以为

$$[0080] \quad V_{\text{settling}} = 2/9(d/2)^2(s.g.-1)g/\nu = 0.00165\text{mm}/\text{秒} \text{ 或 } 99 \mu\text{m}/\text{分钟}。$$

[0081] 若从中间储器的底部或顶部抽运球化后的 RBC 溶液, 则 RBC 沉积可能会改变细胞计数。可通过减少存储球化后的 RBC 溶液与将球化后的 RBC 溶液抽运到测量通道上之间的停滞流时间 $\Delta t_{\text{stopped}}$ 来减少这种影响, 从而确保该罐的垂直尺寸大于沉积高度 Y_{settling} , 这种沉积高度 Y_{settling} 是停滞流时间与沉积速度的积, $Y_{\text{settling}} = \Delta t_{\text{stopped}} V_{\text{settling}}$, 并且从储器中的出口抽运这种溶液, 这种储器的出口高于 Y_{settling} 。

[0082] 可将球化后的 RBC 的大多数转移到废物容器。可采用连续流工艺而不是采用系列工艺方案, 这种连续流工艺将球化后的 RBC 溶液分离成两个流。往往将一个流直接倾入废物容器, 另一个流往往会正常流到测量通道。在第二个流上可需要流量传感器, 以确保对正确量的试样进行测量。正如在系列工艺方案中所指出的那样, 为了与当前的试样速度相匹配, 球化后的 RBC 溶液的试样流通常为总体流的 $1/83^{\text{rd}}$ 或 1.2%。因此, 球化后的 RBC 的 98% 以上往往被转换成废物, 这种废物表现为卡上存储的效率非常低的使用。可通过改变试样和稀释泵以获得用于球化后的 RBC 溶液的试样流来主动实现这种过程的控制, 或者通过在已将适当体积的溶液取样时停止细胞计数来被动获得这种过程的控制, 假定并未超过最大流速。

[0083] 另一种方式可包括球化后的 RBC 溶液进入测量通道中的两级推动。第一级 (级 1) 可以用流速 Q_{sample} 和 Q_{diluent} 的全血试样和球化溶液的协流, 设定 Q_{sample} 和 Q_{diluent} 以实现最低试样流速和正确的稀释。球化后的 RBC 溶液可开始填充通向集中室和测量通道的

长球化通道。但在溶液到达集中室和取样开始之前，第二级可通过同时停止试样流和足够地减慢实现理想的细胞到达频率的稀释流开始。在对 RBC 进行计数时，仅有球化溶液流可继续。

[0084] 可在第一级期间用足够体积的球化后的 RBC 溶液填充球化通道，因为在进行 RBC 计数时，在第二级（级 2）期间的缓慢推动期间，球化后的 RBC 溶液不会被耗尽。图 21 中的表示出了用于各种稀释比率的试样和球化溶液流速，这些稀释比率从等式 1 ($f_{\text{arrival}} = \rho_N Q_{\text{sample}}$) 和稀释系数 DF 算出。稀释等式可以是

$$[0085] \quad Q_{\text{diluent}} = DF f_{\text{arrival}} / \rho_N$$

[0086] 图 21 中的表还示出了级 1 期间存储在球化通道中的球化后的 RBC 溶液的体积，假设 10 秒钟的 RBC 计数时间，10 秒钟的 RBC 计数时间应产生 30,000 个数。

[0087] 在实践中，级 1 可继续几秒钟（如 5 秒钟），从而根据稀释系数产生 25 至 250 μl 的球化后的 RBC 溶液。这种球化后的 RBC 溶液中的一些会在级 2 的开始时耗尽，而稀释泵流速减慢到其用于级 2 的设计流速。此时，光学装置和探测器往往会准备好继续计数。在计数之后，可将球化后的 RBC 溶液的余下部分清除到废物中。

[0088] 这种方案不同于方案 2 的系列过程，因为从未将流停止，这样就减少沉积并无需另外的流量传感器，因为相同的传感器可在两个级期间用于测量稀释流速，而且也无需卡上阀门来将通道接通和切断。

[0089] 图 21 中的表示出了用于球化后的 RBC 溶液的两级推动的试样和球化溶液流速，并容许 3 μm / 分钟的最低试样流速和 3,000Hz 的最大取样速度。图 21 中的表还示出了产生 30,000 个数的 10 秒钟测定所需的球化后的 RBC 溶液的最小体积。所示出的级 1 的流动在较高的稀释系数时非常高。

[0090] 这种方式或方案中的几个项目可包括以下内容。用于球化溶液的流量传感器可能需要精确地测量流速，这些流速在级 1 与级 2 之间相差两个数量级。这即便是在流量传感器在此整个大范围呈非线性时也可实现，因为可将它们校准以用于这些条件。以两个数量级改变球化溶液可由于流体系统中的电容而难以控制。在最高稀释系数时可要求高球化溶液流速（即典型的防护流速的 4 倍以上）。为了降低球化溶液流速，可使用较低的稀释系数（如 $DF = 100$ ），但这会要求对应的较高防护流以限制细胞符合率。

[0091] 可有球化后的 RBC 的两级推动，这种两级推动带有连续的试样抽运。前面的方案中的变化可以是使用试样泵在第二级推动期间推动球化后的 RBC 溶液，而不是使用稀释泵。这可简化控制动力学，因为试样泵在第一和第二级期间均可以恒定的流速运行。稀释泵仅需在第一级期间到达并保持一个流速，然后在第二级开始时减慢并停止，而防护泵启动。图 22 中的曲线图示出了在用于 RBC 取样的球化后的 RBC 溶液的两级推动期间的试样和稀释泵的一种控制方案或模式。可在 RBC 取样开始之前的向下倾斜期间穿过测量通道废弃在向上倾斜期间存储的溶液。球化后的 RBC 存储的体积需要足够地用于 RBC 取样时间段，因为后面的流体往往会朝向全血。

[0092] 图 23 中的表示出了用于球化后的 RBC 溶液的两级推动的球化溶液流速和细胞符合率，并假设 3 μl / 分钟的试样流速、500 μl / 分钟的防护流速和 3,000Hz 的取样速度。而且，该表还示出了产生 30,000 个数的 10 秒钟测定所需的球化后的 RBC 溶液的最小体积。级 1 的流动在较高的稀释系数时非常高。该表示出了稀释比率对所要求的稀释流速

和合成的细胞符合率的影响。

[0093] 几点值得注意。用于可能不具有理想的稀释，所以可在 RBC 取样开始之前的向下倾斜期间穿过测量通道废弃在向上倾斜期间存储的球化后的 RBC 溶液。这可通过确保体积相等的流体由稀释泵在向上倾斜和向下倾斜时间段期间移动得到促进。

[0094] 积累在试样喷射器与集中室（球化后的 RBC 存储）之间的通道中的球化后的 RBC 溶液的体积需要足够地供应整个 RBC 取样时间段，因为通道中的后面的流体稀释得越来越少并朝向全血。

[0095] 稀释流速高且可导致对泵的极大背压，因为对试样喷射器下游的窄扩散混合通道有限制。可通过将长度变短并保持该通道在 Z 方向的细度的通道几何结构的重新设计来极大地减少这种限制，通道在该长度变窄。可注意到，在级 1 期间，通常无穿过测量通道的压力损失，因为通常无流体已到达该测量通道。

[0096] 可与试样流速成比例降低稀释流速。例如，若将试样流速降低至 $1.5 \mu\text{l}/\text{分钟}$ ，则稀释流速可减半。

[0097] 可在级 2 的 RBC 取样时间段期间将防护流速从 $400 \mu\text{l}/\text{分钟}$ 增加到 $500 \mu\text{l}/\text{分钟}$ ，而并不极大地增加在泵的背压，因为稀释泵在该时间期间关闭。

[0098] 可在向下倾斜时间段（在防护泵启动时）期间具有由于穿过测量通道的结合的稀释和防护流而导致的高背压，这种高背压可破坏动态系统的稳定性。可在稀释液的向下倾斜时间段期间将防护流速向下倾斜，以使防护和稀释液流速之和在整个向下倾斜和 RBC 取样时间段接近于恒定。

[0099] 可有带有连续试样抽运的球化后的 RBC 的两级推动，这种连续的试样抽运具有稀释液和防护液的相等流速。若认为防护溶液有可能与球化溶液相同，则可使用相同的泵来按次序输送这两种溶液，并利用阀门调节来在推动稀释液和推动防护液之间切换。图 24 示出了这种情形，此时，将一个阀门打开，以在将球化后的 RBC 溶液存储之后允许流入集中室，然后将另一个阀门关闭，该阀门阻止流进入球化后的 RBC 存储通道。

[0100] 图 24 示出了在用于 RBC 取样的球化后的 RBC 溶液两级推动期间的用于试样和稀释泵的控制方案。稀释泵还用于推动用做防护流体的稀释液。卡上阀门在通道之间切换流。往往在 RBC 取样开始之前的向下倾斜期间将向上倾斜期间存储的溶液穿过测量通道废弃。球化后的 RBC 存储的体积需要足以用于 RBC 取样时间段，因为后面的流体会朝向全血。

[0101] 图 25 中的表示出了稀释液和试样流速之间的平衡、用于计数所要求的数量的取样时间和球化后的 RBC 溶液所需的存储的体积。在所示出的这些情形中，合成的核心应为 9×9 微米，或者，若用集中室的几何结构进行处理，则为 25×3 微米，即在 z 方向非常薄。

[0102] 图 25 中的表示出了用于球化后的 RBC 溶液的两级推动的球化溶液流速和细胞符合率，并假设 $3,000\text{Hz}$ 的取样速度。可注意到，在这些运行条件下，在取样期间所要求的球化后的 RBC 溶液的量通常小于 $1.5 \mu\text{l}$ 。

[0103] 方案 5 是带有恒定的试样流速的球化后的 RBC 溶液的两级推动，这种方案具有吸引力，因为这种方案并不要求另外的泵、阀门或流量传感器，并且也符合全血试样流速 $Q_{\text{sample}} \geq 3 \mu\text{l}/\text{分钟}$ 和计数频率 $f_{\text{sampling}} \leq 3,000\text{Hz}$ 的要求。可能受到的挑战包括保持系统的

动态控制，这种系统带有用在级 1 的推动中的大稀释液流速。

[0104] 方案 6 是方案 5 的一种变化形式并允许相同的泵（和流量传感器）按次序推动球化溶液，即首先作为稀释液，然后作为防护流体，并且利用阀门调节来在流通道之间切换。可联想到用列于图 25 的表中的操作条件推进。

[0105] 本发明中的一种方式可包括在操作阀门以在利用流产生球化后的 RBC 溶液与利用流作为防护流体之间切换时，确定流控制是否可由球化溶液泵保持。然后，可确定可多快将来自的稀释泵的流从其最大流速的 100% 向下倾斜至其最大流速的 50%。可将这个时间与来自防护泵的流速从其最大流速的 0% 向上倾斜至其最大流速的 100% 所要求的时间进行比较。可将位于试样喷射器下游的扩散混合通道进行重新设计，以减少在这种流体通道中的压力损失。可对血小板取样过程进行分析，以确定这种取样过程可怎样符合于方案 6 以及血小板符合是否可管理。

[0106] RBC 红细胞计数器卡上的球化通道的一种目的可以是将全血的细带中的红血球暴露给球化剂足够的滞留时间以完成球化过程。细带形状可能是理想的，因为这种形状允许球化剂快速扩散至红血球并开始这些红血球的球化。然而，一将全血稀释，全血的红血球就不必由血浆蛋白质保持在位置中并且开始沉淀。可将球化通道设计成减少红血球的沉积，红血球的沉积是细胞计数错误的重要来源。

[0107] 球化通道可以是 RBC 红细胞计数器卡的流体通道中的一个。图 19 示出了一种 RBC 卡。球化通道 67 是尺寸 73 与 72 之间的曲线段。图 26 是球化通道 67 的参数概略图。由球化溶液 111 (图 27) 包围的全血的细带 112 可进入在 73 的左下侧上的入口并流到在 72 的集中室中的出口。图 27 是从下游向球化通道内观察的视图。假定这些细胞在中心形成细带 112，该中心占据该截面的 4.8%。球化通道的图 26 示出了参数值，这些参数值可以为 $r_1 = 2.5$ ， $m = 0.2$ ， $n = 0.4$ 且 $w = 1.3$ ，均以毫米为单位。

[0108] 球化通道内的红血球（细胞）的滞留时间需足够地长，以使球化剂将它们充分球化。但由于这些细胞比周围的水溶液的密度大（因为它们含有铁（血色素）），所以这些细胞可在每个时刻沉淀，因此，在必要时应将滞留时间保持在最低。在水平通道内，必然有至壁的非常小的距离，细胞沉积可在这种非常小的距离出现。到达流速低的近壁区域的细胞可能形成沉积物且不可能在流中再曳出。在垂直通道内，细胞沉淀可降低上升流内的数量密度并增加下降流内的数量密度。在角周围的层流中，较高的速度在内径附近。外径流往往慢得多。这些考虑引出以下项目。可将水平通道制得窄小，以提高局部流速并降低那里的细胞滞留时间。可将垂直通道制得宽大，以减慢流动并在球化通道内提供大部分细胞滞留时间。可确保垂直通道是等长的上升和下降通道，以计数细胞数量密度中的变化。应在角周围平滑地使通道变窄，以避免细胞可能凝集的慢速流动区域。

[0109] 初始条件可包括以下几条。在模拟开始时，可用纯净的球化溶液填充球化通道。应无细胞出现且流体流速应为零。实际上，最初可用空气填充球化通道，这样就会有润湿通道的方式。

[0110] 在球化通道的入口的限制条件可实现球化通道的负载分配循环。输入流速可随着时间而变化且细胞数量密度在整个流截面发生空间上的变化。细胞的浓度轮廓可包括位于通道 67 的入口的中心的细胞细带。血液流可恒定在 $1.5 \mu\text{l}/\text{分钟}$ 。可以设想，球化溶液流速在第一秒钟期间从来向上倾斜至 $450 \mu\text{l}/\text{分钟}$ ，在 9.5 至 10 秒钟向下倾斜回到

零，然后保持在零一会儿。实际上，最初由球化溶液防护的全血可在球化通道 67 的入口进入球化通道 67，并继续到达集中室。可将球化通道的出口保持在零压力（相对于大气压力）。

[0111] 血液与球化溶液之间的动量传递可采取带有 $5.5 \mu\text{m}$ 的气泡（细胞）直径的 Wallis(1969) 模型（最初开发用于在水柱中制作浮力气泡的模型）。球化溶液的密度密度可以为 $\rho = 0.001\text{gm}/1$ ，且动态粘度为 0.001Pas 。细胞的比重可假定为 1.11，且比粘度为 5.5。重力加速度视为 $9810\text{mm}/\text{秒}$ 。

[0112] 可利用数值多重物理方法开发球化通道模型。计算方法可包括通过质量和动量守恒制作流体运动模型。有限体积的计算网格可用于制作器件几何图形的基本特性。所采用的数值方法可以是双流体方法，这种双流体方法制作两种流体（即血细胞和球化溶液）的运动和它们之间的动量传递的模型。这种方法可解决用于每种流体的分离的质量和动量守恒方程问题，并允许包括由于重力而导致的细胞上的质量力与间期拉力之间的相互作用。建立这些方程与体积分数 α 的关系，这种体积分数用作每个有限体积内血细胞的体积分数。

[0113] 对每种流体穿过球化通道的运动的计算可通过用于每种流体的动量守恒的独立应用来实现。Navier-Stokes 方程可用于不可压缩的牛顿流体，这种不可压缩的牛顿流体是牛顿第二定律在系统中的流体中应用的结果。这种方程是

$$[0114] \quad \frac{\partial \rho \alpha u}{\partial t} + u \cdot \nabla \rho \alpha u + \alpha \nabla P - \mu \alpha \nabla^2 u - F = 0$$

[0115] 这是一种可用于复杂三维流场的通用方程，这些复杂三维流场带有向量速度 $u = (u_1, u_2, u_3)$ 、血细胞的体积分数 α 、压力梯度 ΔP 、流体密度 ρ 、流体粘度 μ 和质量力 F ，质量力 F 包括重力和间期拉力。可独立解决这种方程，以制作这两种流体中的每一种的模型，然后，根据细胞与球化溶液之间的拉力方面的关系建立这种方程与间期动量传递关系。可假定用于血细胞期的恒定粘度，在实践中，当球化溶液在血液试样流中扩散并稀释血液试样流时，这种粘度可降低。

[0116] 试样到试样环路内的后推在红细胞计数器卡中是常见的。后推可由试样 / 稀释液喷射器中压力的突然升高导致，这种突然升高由稀释液和、或防护流的突然开始所导致。压力中的增加可导致反向流进入卡结构或流体内任何上游一致性。由于试样速度率非常小，所以虽然后推体积小于一微升，但试样返回喷射器可花费许多秒。

[0117] 在这种 RBC 卡中，试样后推可回应于稀释流的起点。位于卡与注射器泵之间的流量传感器尚未显示任何明显的反向流动，因此可怀疑在试样环路中有一致性。由于卡可不一致或在物理上是坚硬的，所以试样流体值得怀疑。

[0118] 可将试样流体加入三个卡中，对卡的气泡进行检查，这些气泡很有可能成为一致性的来源。两个卡可具有如图 28 所示出的设计 81 和 82。这些卡可具有变化，在这些变化中，将通道端部延伸，以大于这些端部之间的通孔。可以用两种大致不同的流速手动加载或填充这些卡。一个速度可以较快，即约 $5 \mu\text{l}/\text{秒}$ 。另一个速度可由较慢，即约 $0.2 \mu\text{l}/\text{秒}$ 。在设计 81 和 82 中，直径约为 25 微米的气泡 128 可沿着通道的壁偶然出现。而且，在设计 81 和 82 中，大的气泡 129 可在位于通孔之后的宽大入口通道中出现。设计 83 具有通道端部，这些端部的大小与它们之间的通孔的大小相同。在设计 83 中应无

气泡出现。利用快速填充，含有气泡的通孔的比例可以约为用于设计 83 的 30%和用于设计 81 和 82 的约 100%。利用慢速填充，含有气泡的通孔的比例可以约为用于设计 83 的 0%和用于设计 81 和 82 的约 50%。

[0119] 沿着壁的极小的气泡可由壁的粗糙度（而不是波度）所引起，壁的粗糙度可在填充期间将空气挡住。设计 83 的壁比设计 81 和 82 的比光滑并因此而展示出较少的气泡。缓慢填充可减少这些气泡。

[0120] 通孔 (via) 的大小应与通道端部相同。相对于通道端部的小型通孔与气泡的形成相关。通道端部不应形成球状。这些壁应是直的。要么可将通孔直径增加以匹配于通道端部，要么将通道端部减小以匹配于通孔。最大的气泡通常出现在入口通道的端部。应像在图 28 的设计 83 中所示出的那样改变这种通道以消除气泡阻挡。

[0121] 图 29 至图 34 示出了用于 RBC 分析试样盒上的微粒沉淀溶液的器件的示例。这些器件可以是或可以不是图 1b 中的球化通道 21、图 4、图 8 和图 9 中的球化通道和图 13 至图 19 中的球化通道 67 的一部分或替代。图 29 至图 34 中的器件具有展示出抗沉淀或抗累积特性的构造，以阻止微粒沉淀，如红血球的沉淀。这些器件可以是球化通道。

[0122] 在图 29 中，RBC 试样 85 可流入装置或通道 91 内。这种流可大致平行于但逆着重力 86 上向流动。当接近于通道 91 的顶部时，这种流可穿过通道 91 的 U 形转弯或完全部分 87，并朝向通道 91 的出口向下返回。通道 91 的内截面可 U 形转弯或完全部分 87 变得更小或更受限。这可与重力一起减少或避免红血球的积累和不运动，以避免红血球在通道内的沉淀。U 形转弯部分可约为 180 度，或者可将其视为在约 90 度与 270 度之间。

[0123] 图 30 示出了蛇形通道 92。RBC 试样流可在较低部分进入、向上转向、在 U 形转弯或弯曲部 87 以相反方向前进、以水平方向移动、在弯曲部 87 再次转向，以按照相反方向移动。在示范性通道 92 中，这种流可遇到四个 U 形转弯 87。可有更多或更少的转弯或弯曲部 87。这些 U 形转弯通常可以约为 180 度，或者可将其视为在约 90 度与 270 度之间。可确定通道 92 的位置，以使流 85 的向上运动以与重力 86 相反的方向。通道 92 可减少或避免沉积物或细胞的累积或凝集。

[0124] 图 31 示出了另一种抗沉淀或抗沉积积累装置 93。RBC 流 85 可以水平方向进入通道 93。通道 93 可分成两个或更多子通道 88。底部子通道可向上弯曲并与另一个子通道结合成完整的通道。顶部子通道可向下弯曲并与底部子通道结合成完整的通道。流 85 的总体方向可垂直于重力 86 的方向。可以连续地重复这种构造。

[0125] 图 32 示出了用于抗沉淀或抗沉积积累装置的或多或少直的通道 94。通道 94 也可以不是直的。RBC 试样流 85 可进入并流过通道 94。通道 94 可具有特定的内表面，这种特定的内表面可为亲水性的或疏水性的。例如，这种表面可对载有这些 RBC 的流体展示出亲水性。这种流体可以是稀释液、球化剂、溶解剂、防护剂、水等等。亲水表面可降低血细胞或气泡附到该表面的可能性。附着的血细胞不能够被计数；附着的气泡可增加系统的一致性并降低对流体运动的有效控制。不过，在塑料注模工艺中表现良好的许多塑料是疏水的。在此情形中，用如蛋白质溶液进行预处理可最初用束缚蛋白质覆盖疏水表面并因此而产生亲水表面。

[0126] 图 33 示出了用于抗沉淀或抗沉积装置的或多或少直的通道 95。通道 95 也可以

不是直的。RBC 试样流 85 可进入并流过通道 94。通道 94 可具有可电润湿内表面 97，表面能量在这种可电润湿内表面 97 随着所加的电位变化。可用这种源的接地将电位或电压源在入口 98 附近连接到通道 95 的内表面 97，该接地在出口 99 附近连接到通道 95 的表面 97。电压或电位可以与表面 97 的方式相同但极性相反，或以表面 97 的某些部分的极性。

[0127] 图 34 示出了设计用于微粒抗沉淀或抗沉积累积的通道 96。通道 96 可以是直的不直的通道。可大致垂直于试样流 85 穿过通道 96 加上电场和、或磁场 101，以在该通道内实现与具有铁的至少红血球有关的抗沉淀或可累积特性。

[0128] 由于全血是粘弹性材料，所以在将全血作为试样 107 注入溶解或球化溶液 108 内时，全血可表现出凝集行为。减少这种凝集行为的一种方法在图 35 中的 T 型结构 110 中示出，在这种构造中，可结合试样 107 的流速和试剂 108 的流速分别选择通道 111 和 112 的宽度 105 和 106，以在该结处的通道 111 内的壁产生每秒钟 1000 次剪切。这种剪力克服全血的粘弹性复位力并减少凝集行为。通道 112 可作为喷射器运行。与试样 107 结合的试剂 108 可在主通道 111 的下游流动并到达试样盒的微流体网络的下一个级。该下一个级可以是球化通道或机构 115，这种球化通道或机构 115 可以是本说明书中所描述的并在图 29 至图 34 中示出的形式中的一种，或者机构 115 可以是另一种形式。图 36 示出了与球化机构 115 结合的剪切机构或构造 110，这种剪切机构或构造 110 具有球化后的试样输出 116。

[0129] 在本说明书中，虽然以另一种方式或时态陈述一些物质，但它们可具有假定的或预知的特性。

[0130] 虽然在至少一个示范性示例方面对本发明进行了描述，但在阅读了本说明书之后，本领域中熟练的技术人员会明白许多变化和修改。因此，本发明旨在考虑到现有技术时尽可能广泛地解释所附的权利要求，以包括所有的这些变化和修改。

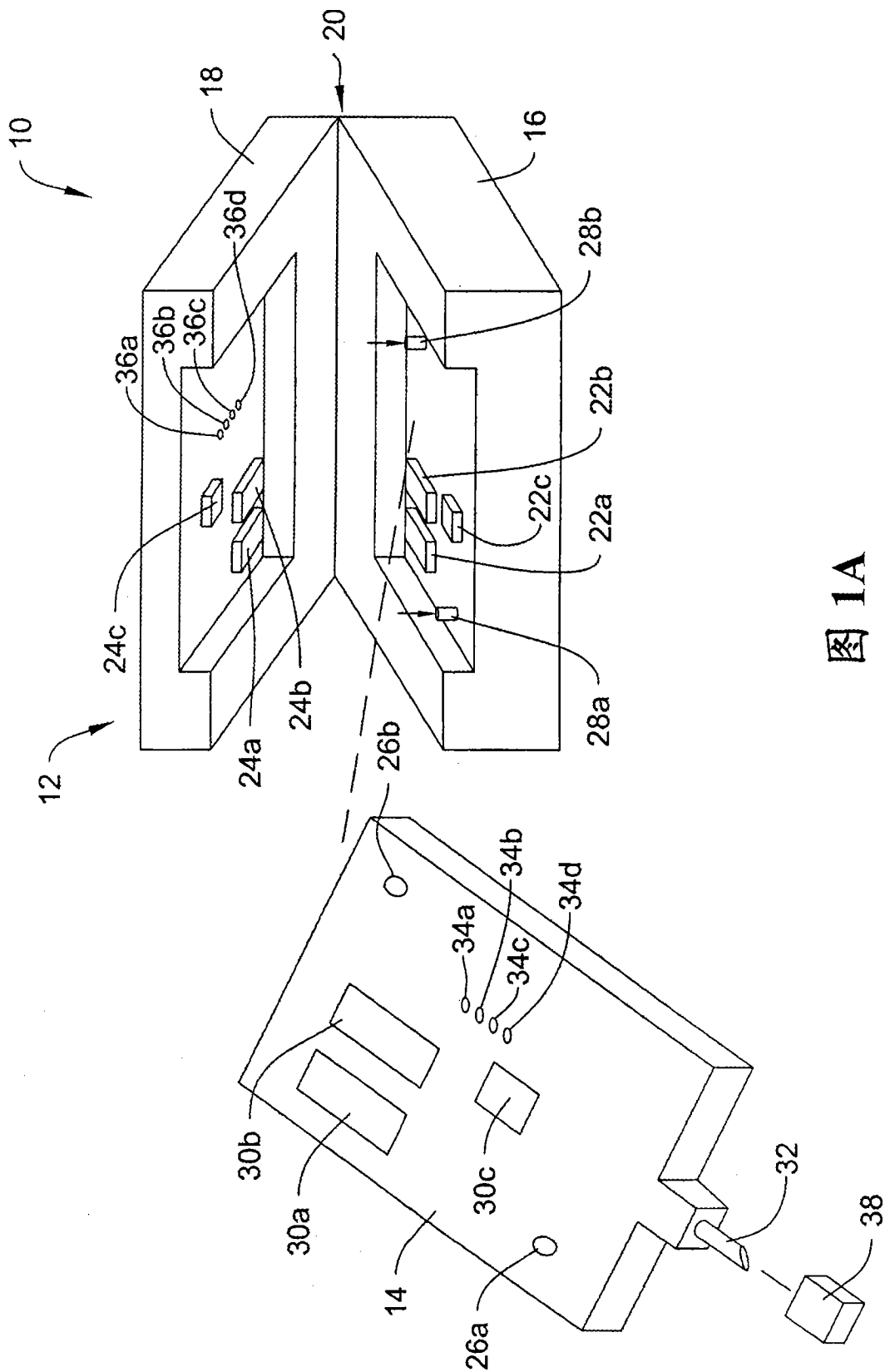


图 1A

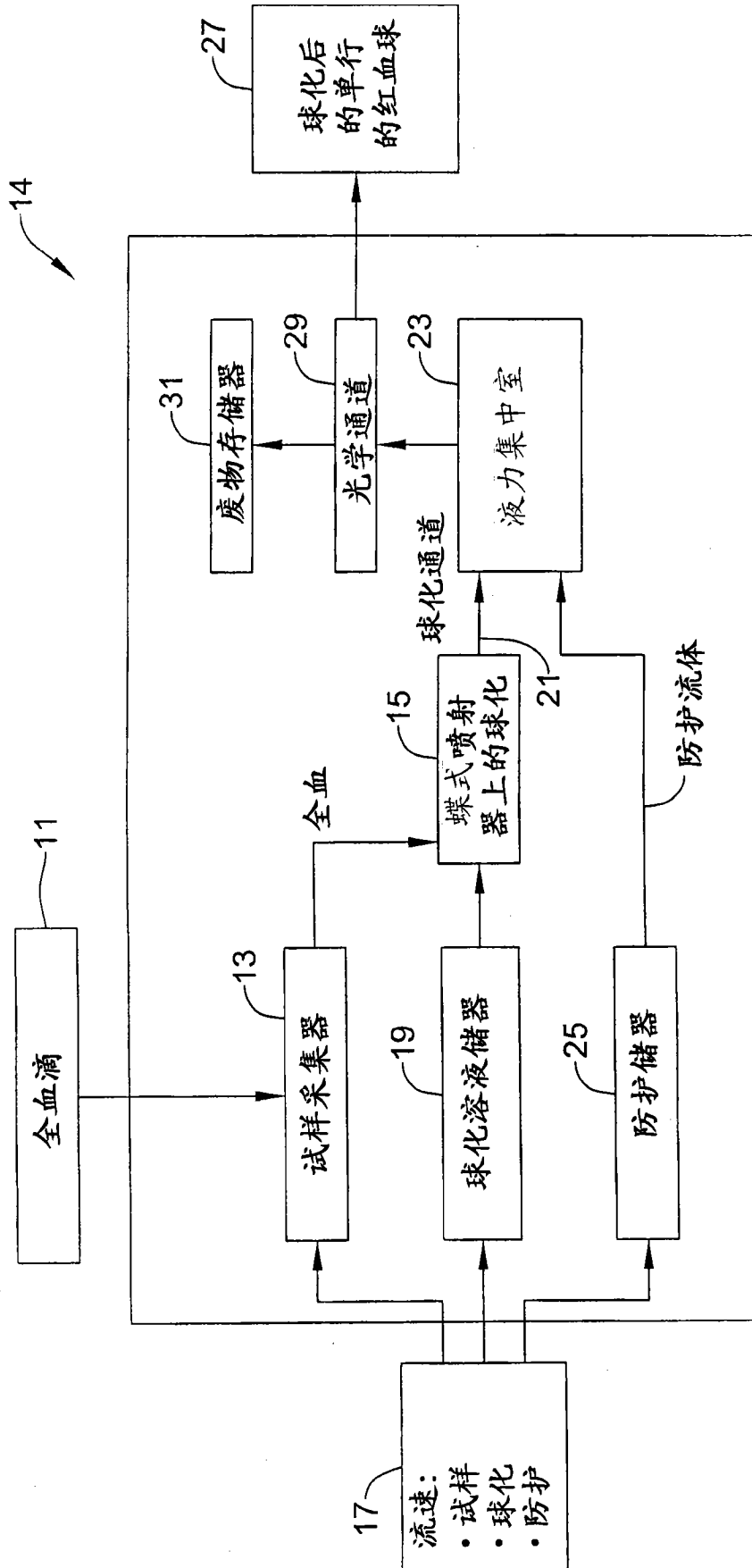
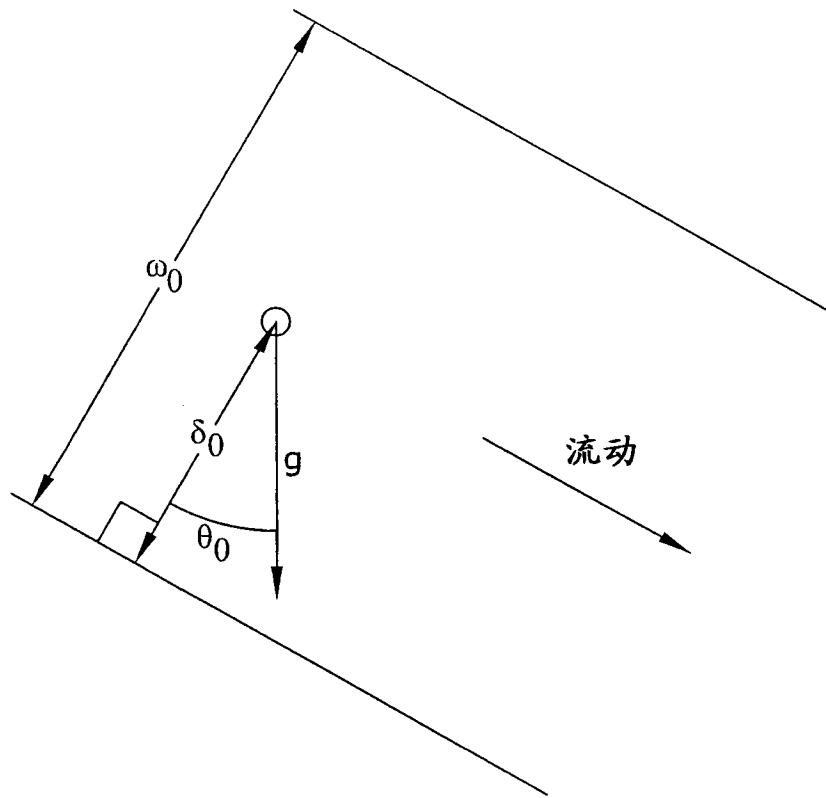
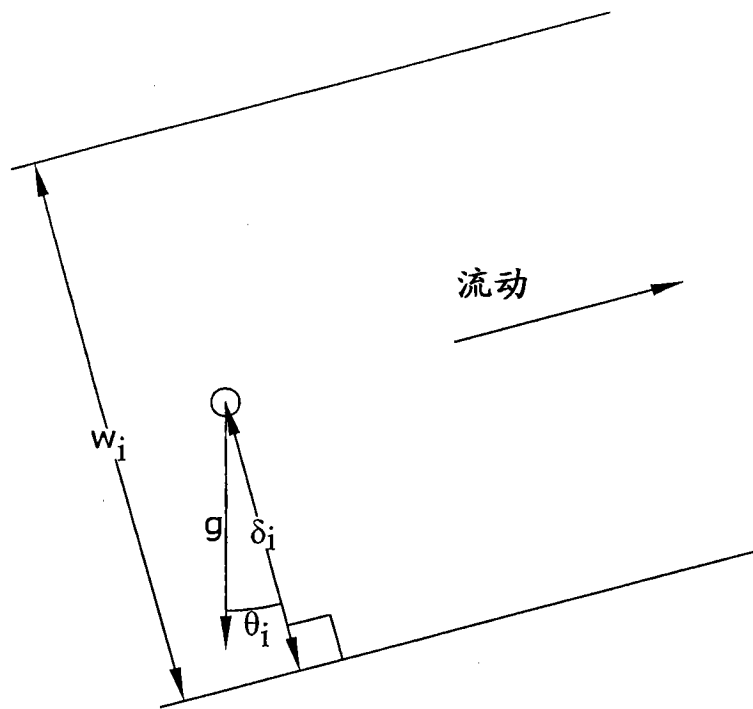


图 1B



a) 初始段

图 2A



b) 段 i

图 2B

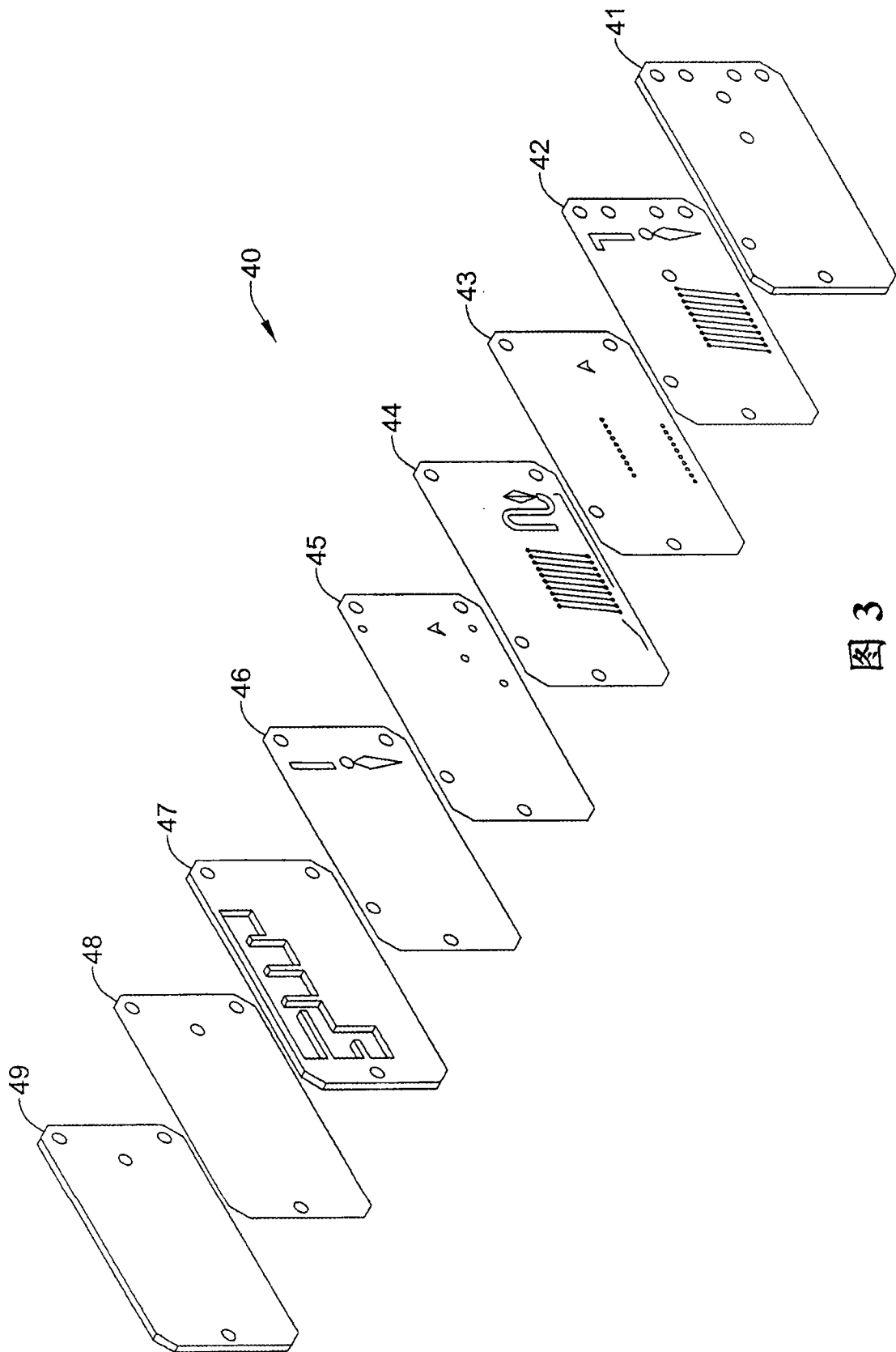


图 3

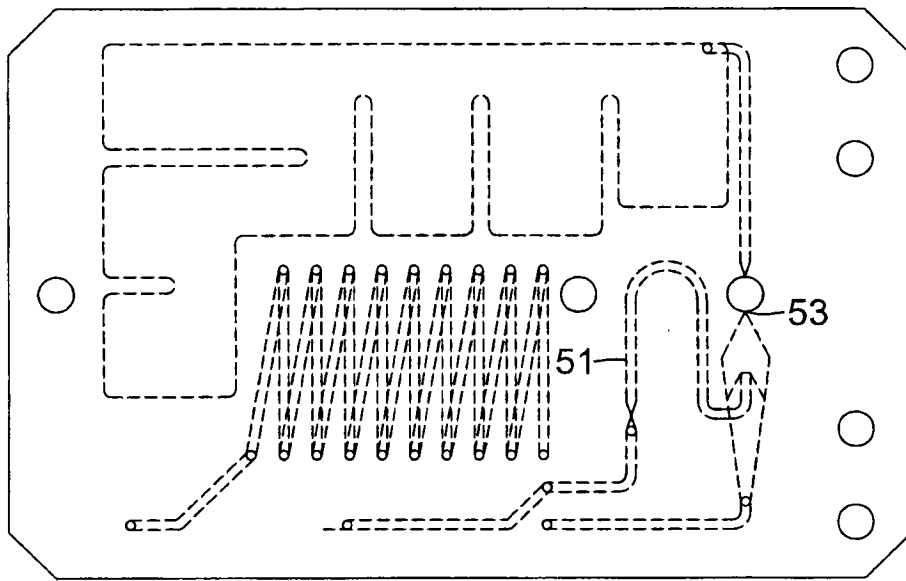


图 4

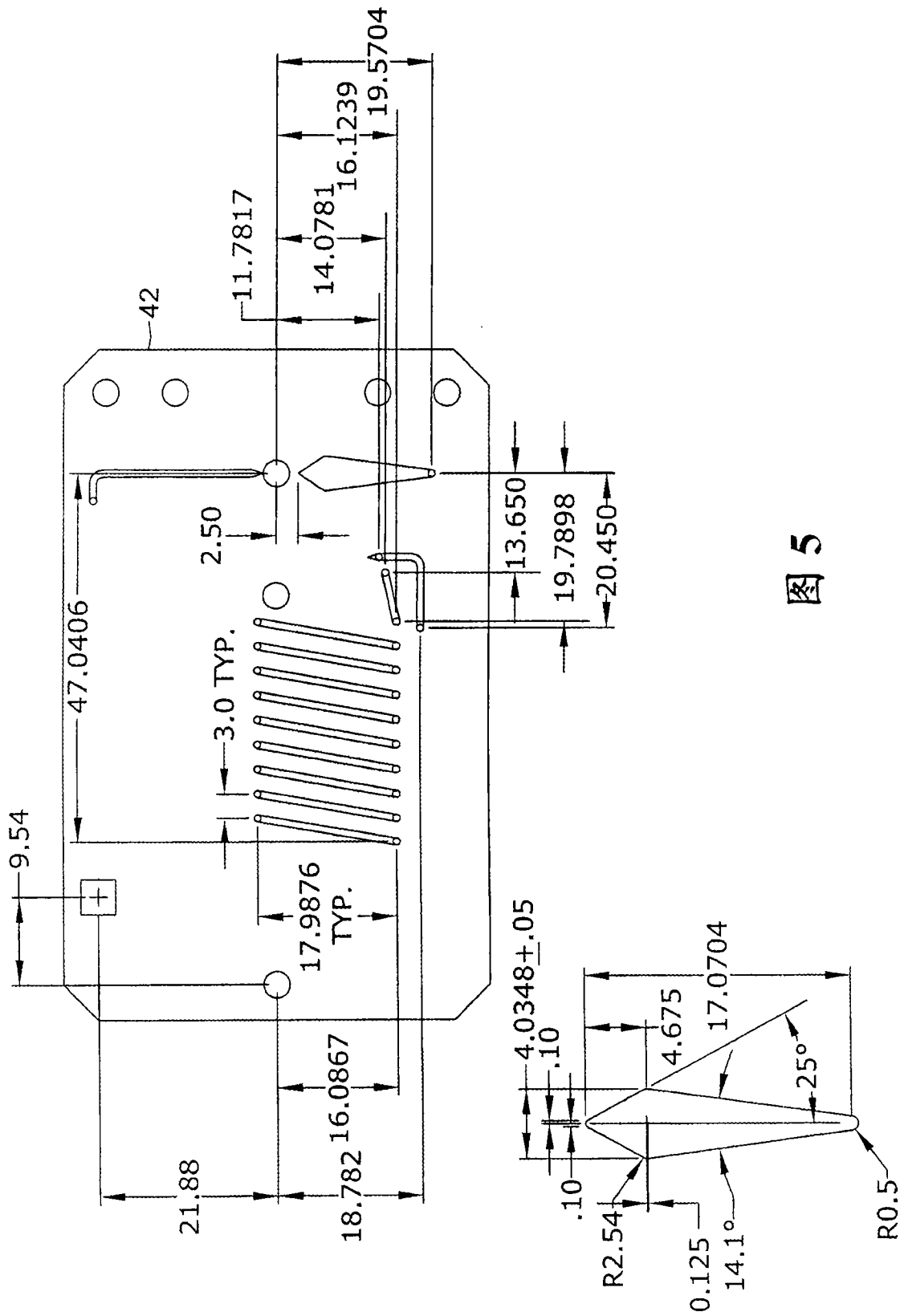


图 5

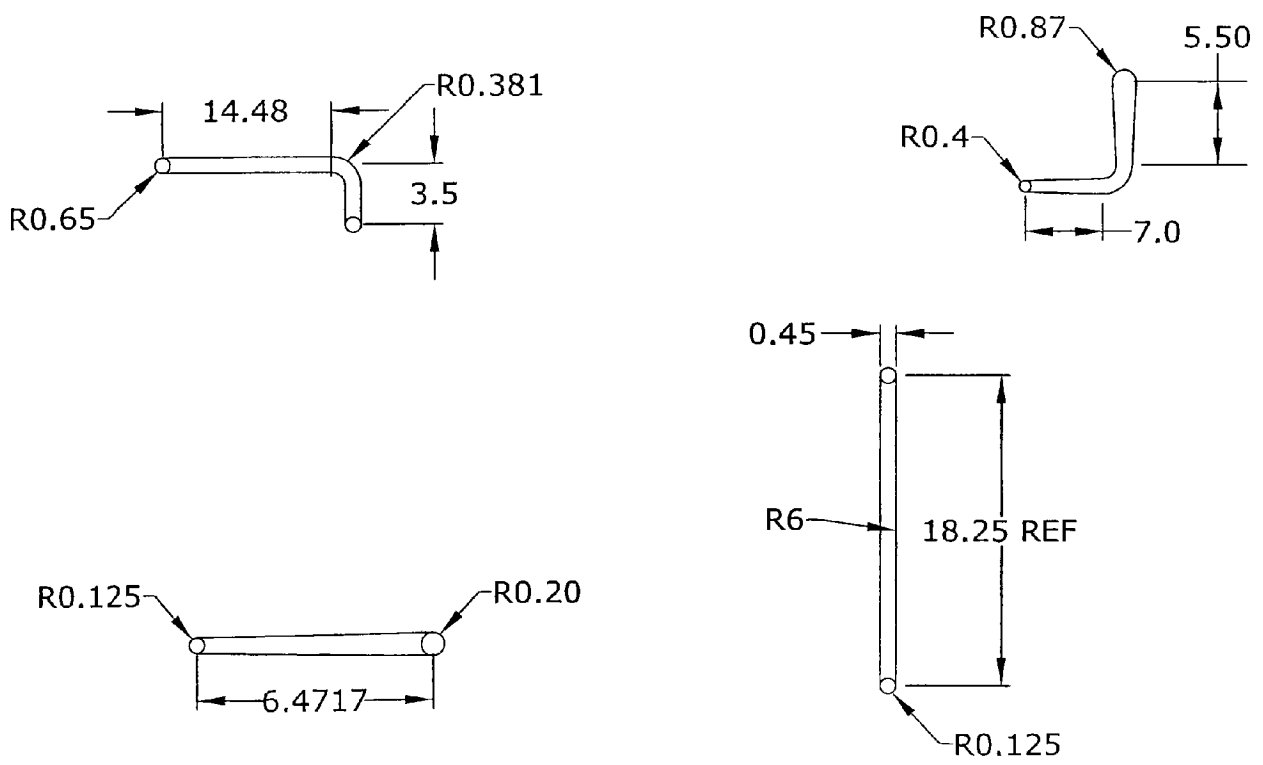


图 6

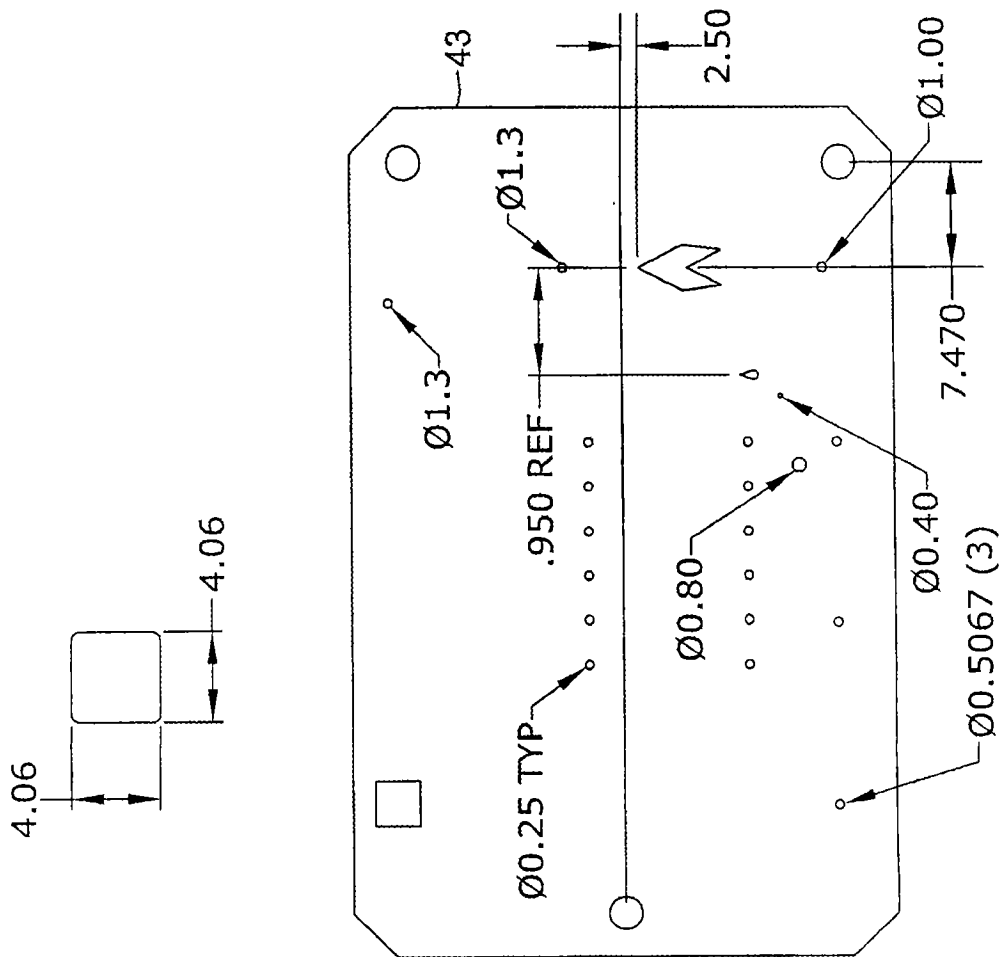
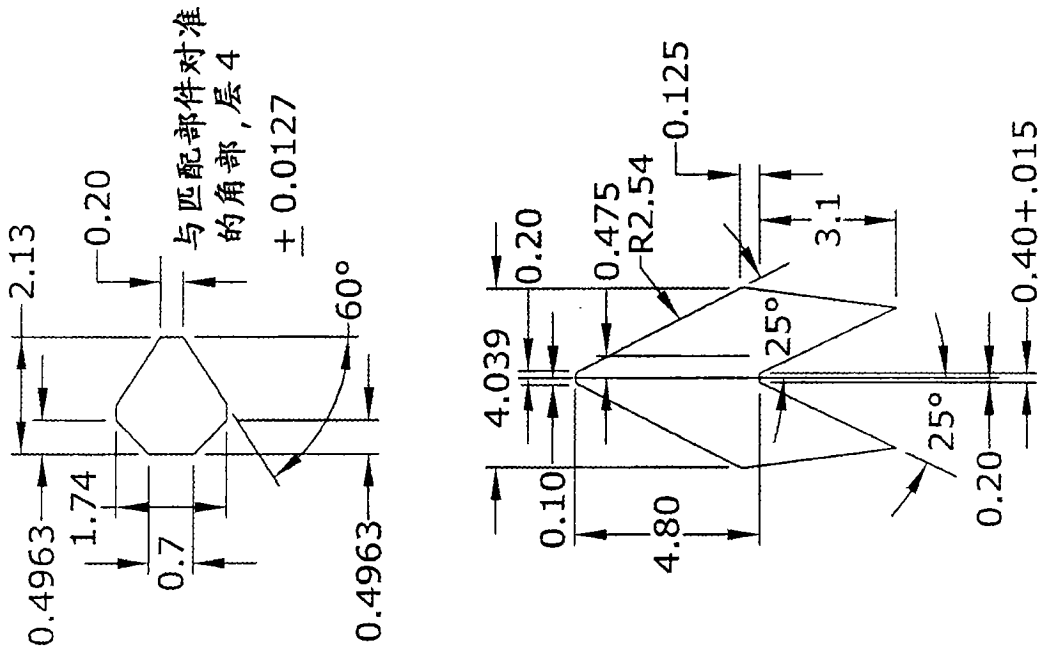


图 7

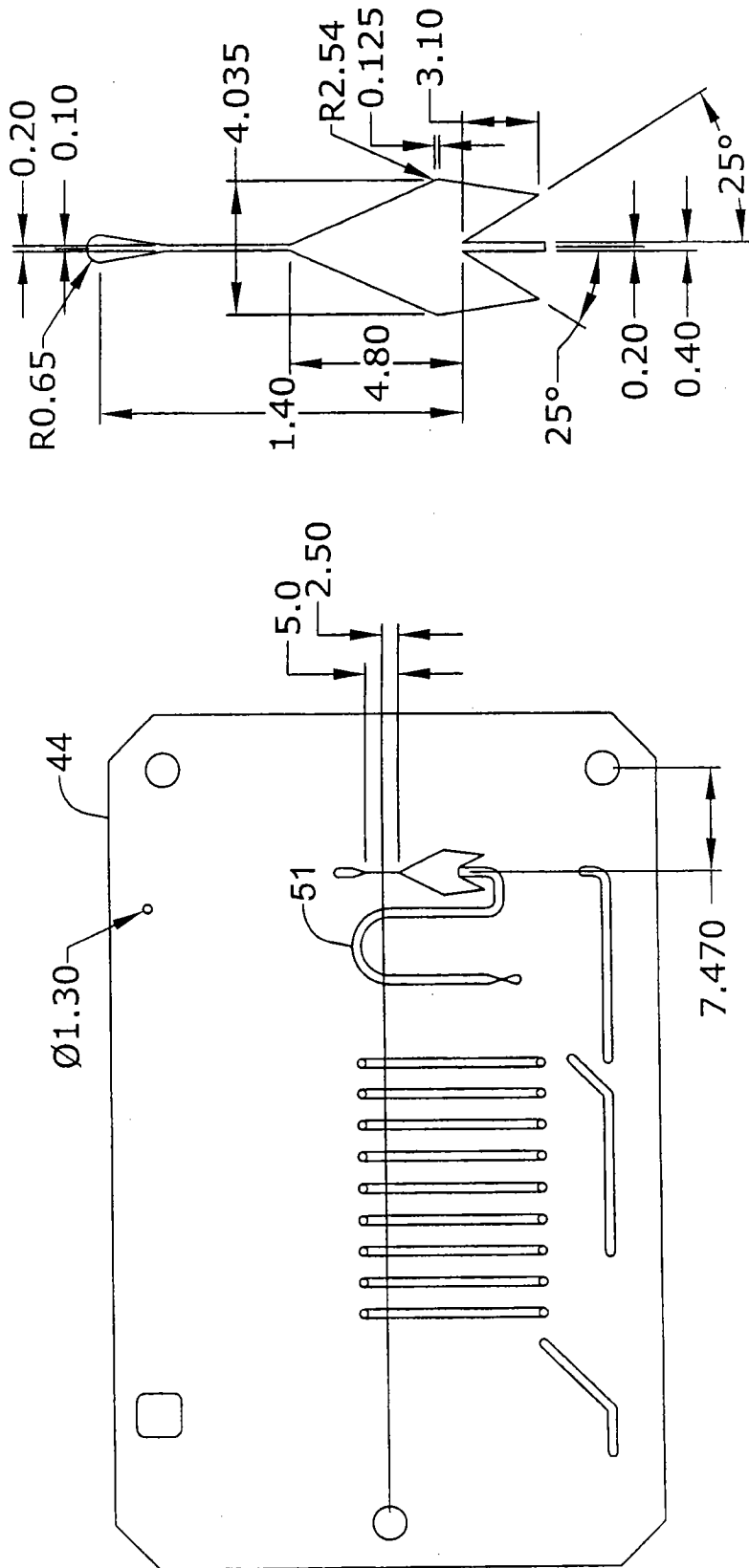


图 8

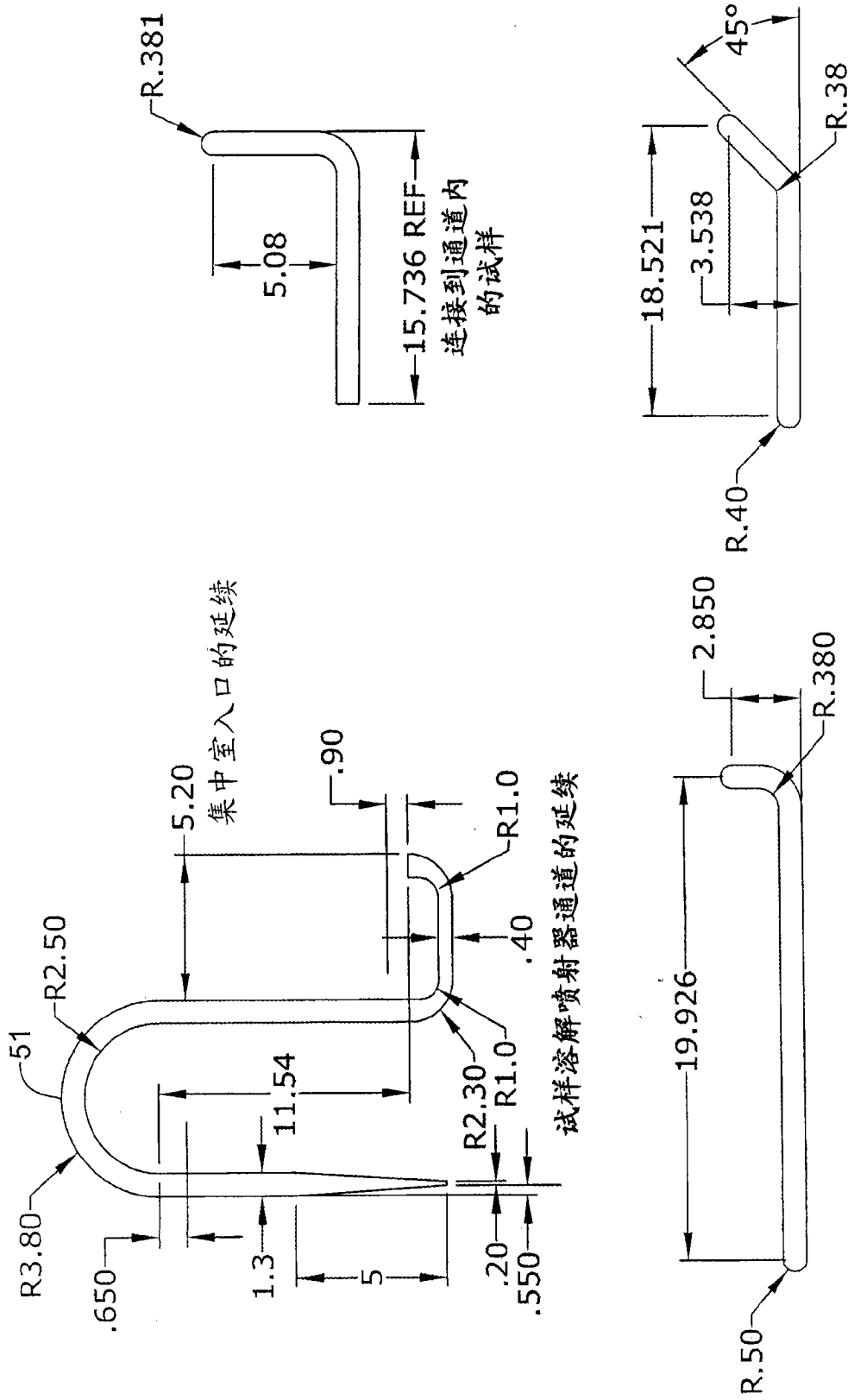


图 9

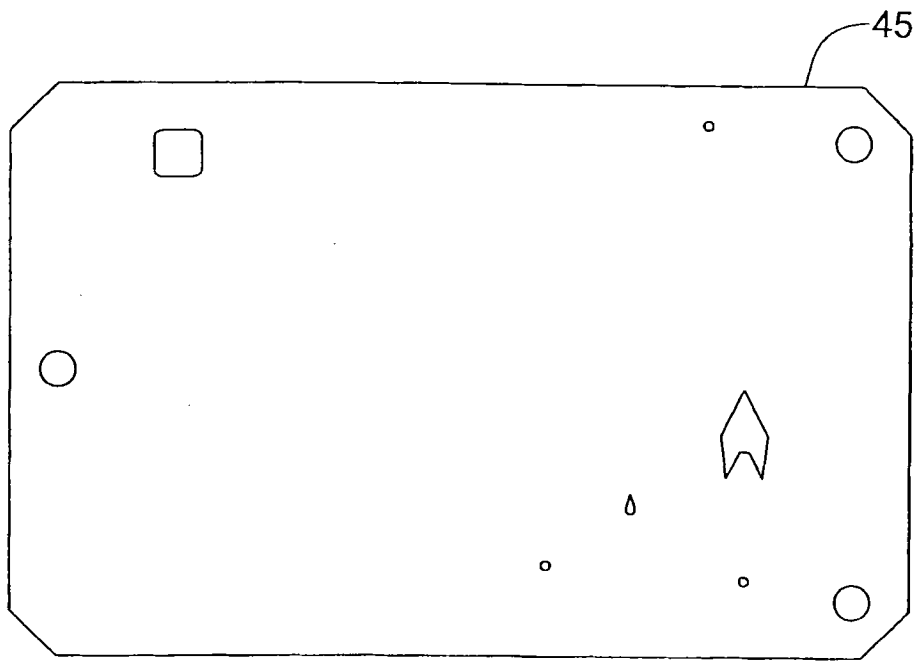


图 10

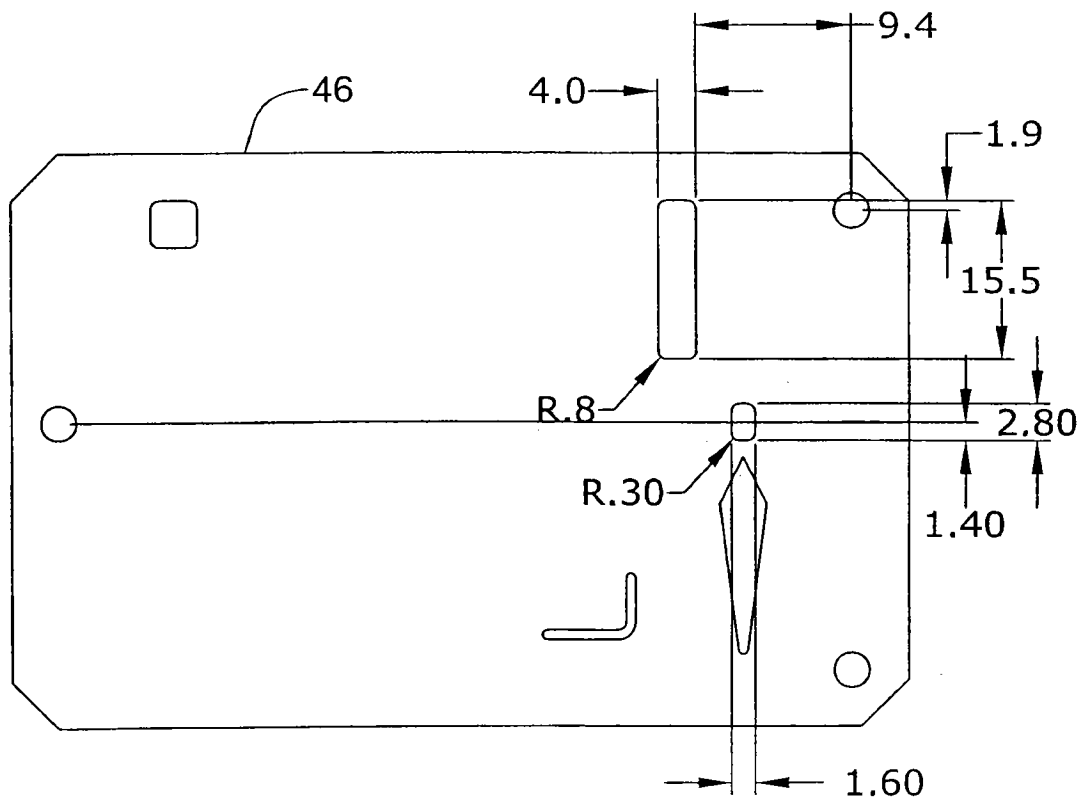


图 11

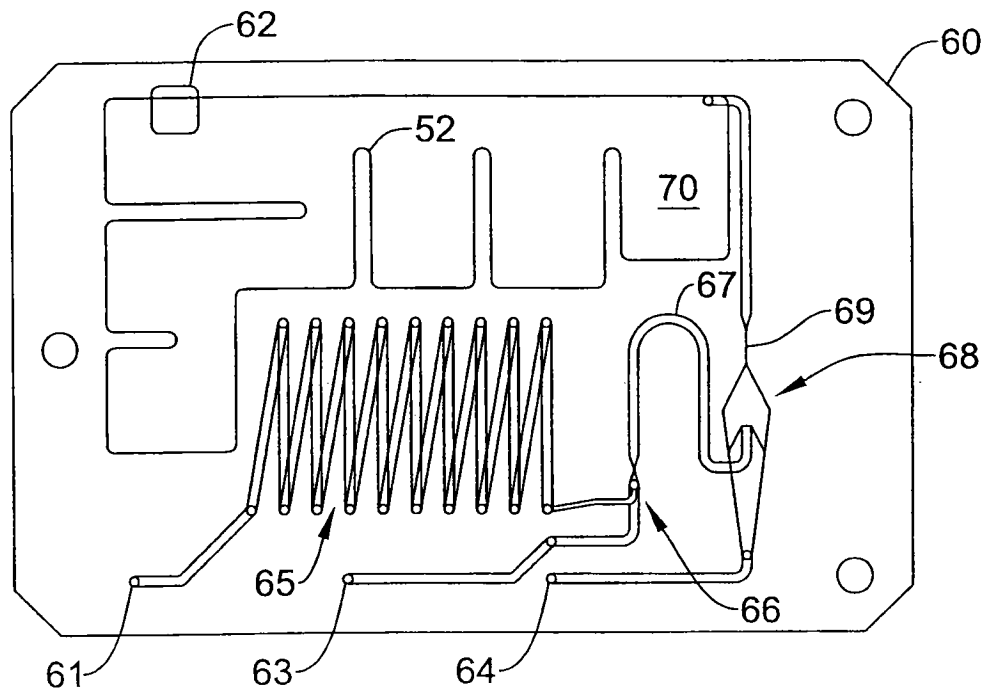


图 13

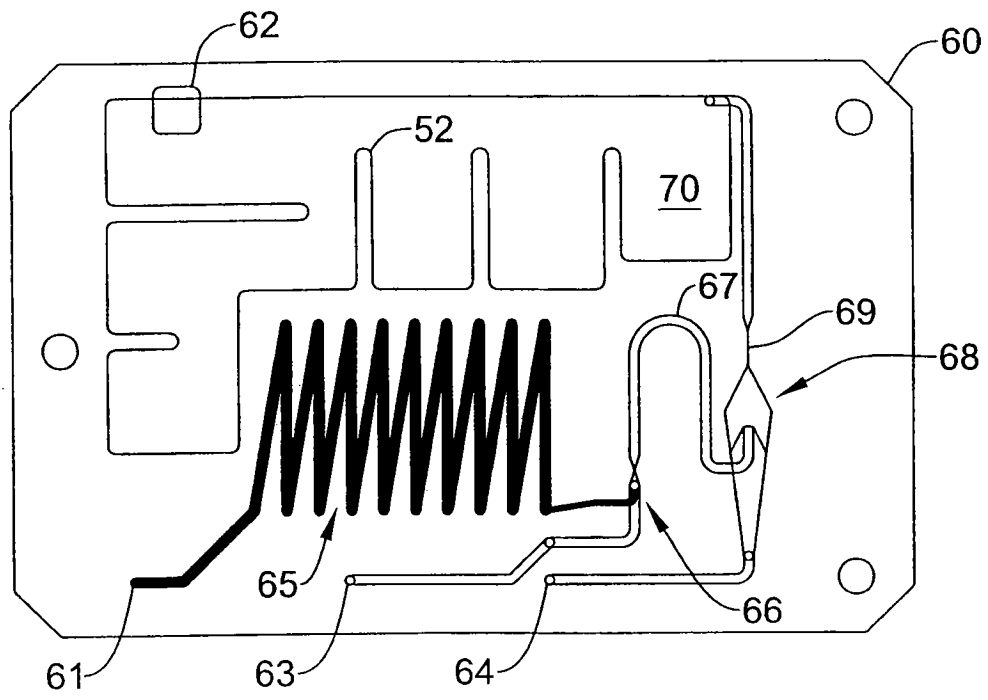


图 14

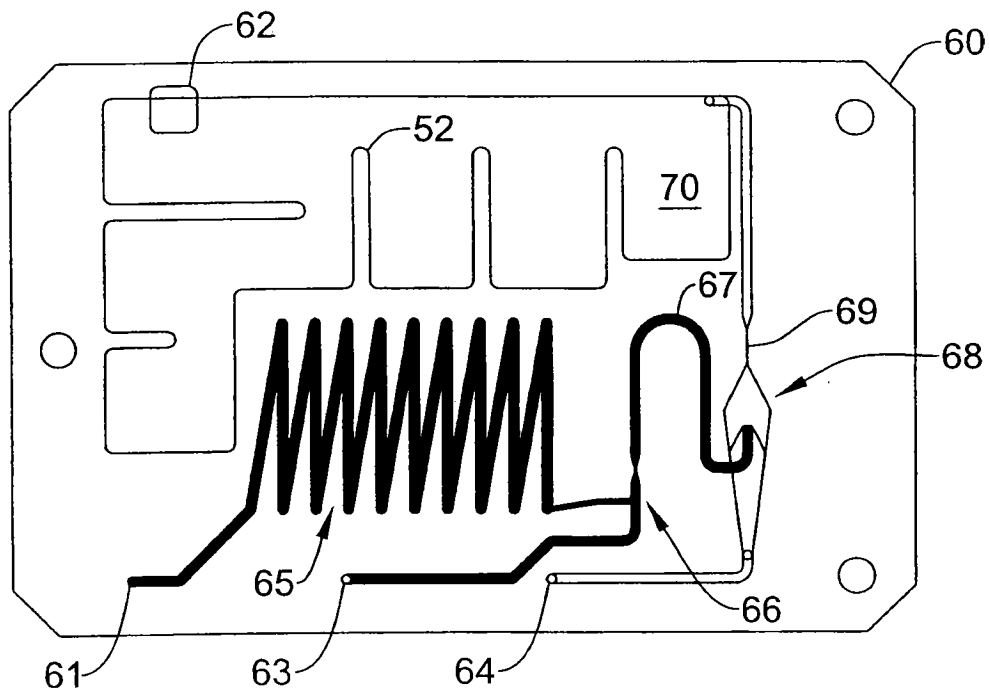


图 15

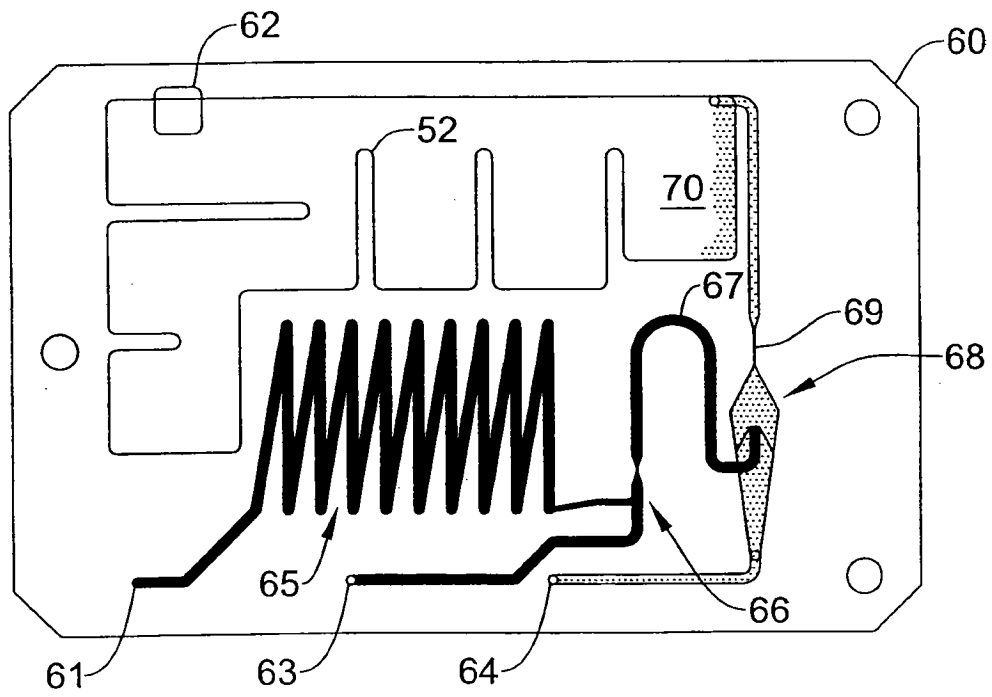


图 16

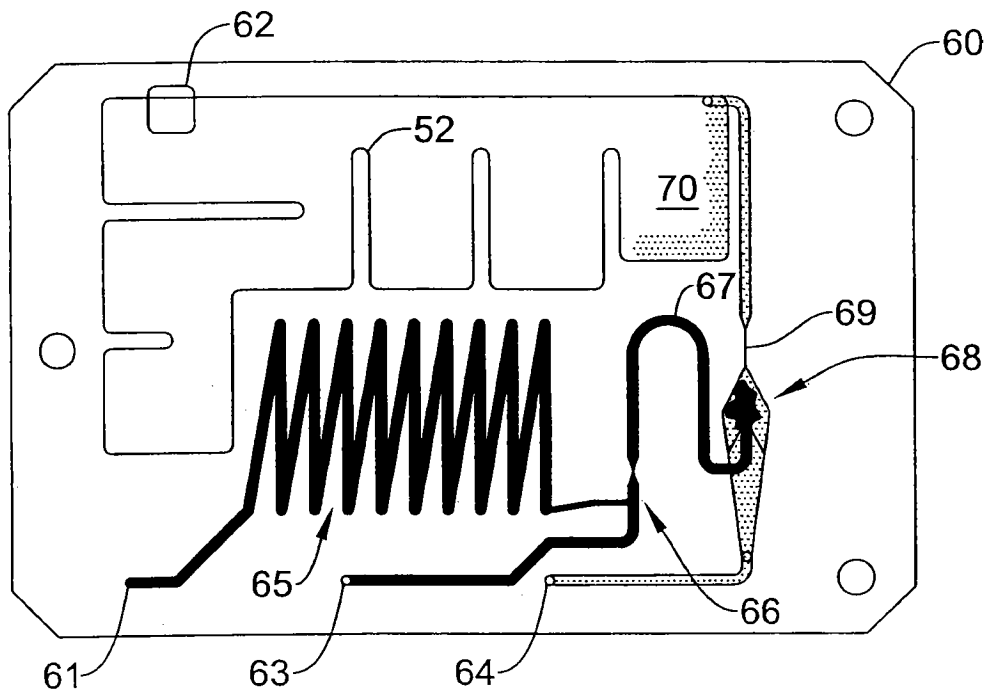


图 17

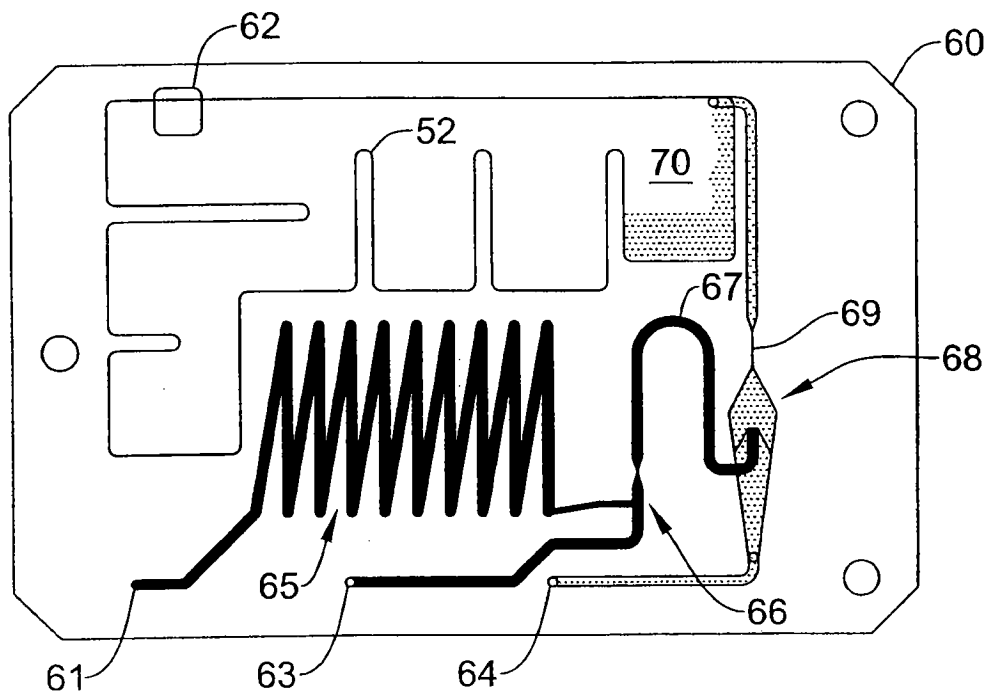


图 18

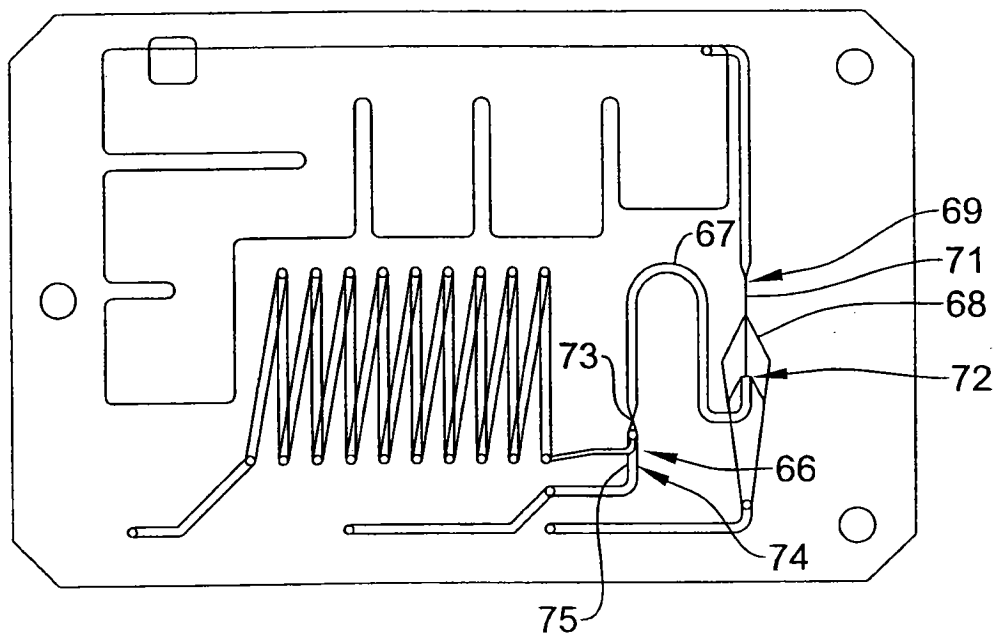


图 19

层号	材料	标称厚度 {mils}	材料厚度范围 {mils}	一批卡之间的允许总偏差 {mils (mm)}
41	PMMA	60	54<t<66	7.5 (0.190)
42	ACA	6	5.4<t<6.6	0.6 (0.015)
43	PET	2	1.98<t<2.02	0.04 (0.001)
44	绿色 ACA	4	3.9<t<4.1	0.2 (0.005)
45	PET	2	1.98<t<2.02	0.04 (0.001)
46	ACA	6	5.4<t<6.6	0.6 (0.015)
47	PMMA	120	110<t<130	10 (0.254)
48	ACA	6	5.4<t<6.6	1.2 (0.030)
49	PMMA	60	54<t<66	12 (0.300)

图 20

流体	稀释液	级 1 { $\mu\text{l}/\text{min}$ }	级 2 { $\mu\text{l}/\text{min}$ }	球化通道最小体积 { μl }
试样	无	3	0	N.A.
球化溶液	600 比 1	1800	21.6	3.6
球化溶液	300 比 1	900	10.8	1.8
球化溶液	200 比 1	600	7.2	1.2
球化溶液	100 比 1	300	3.6	0.6

图 21

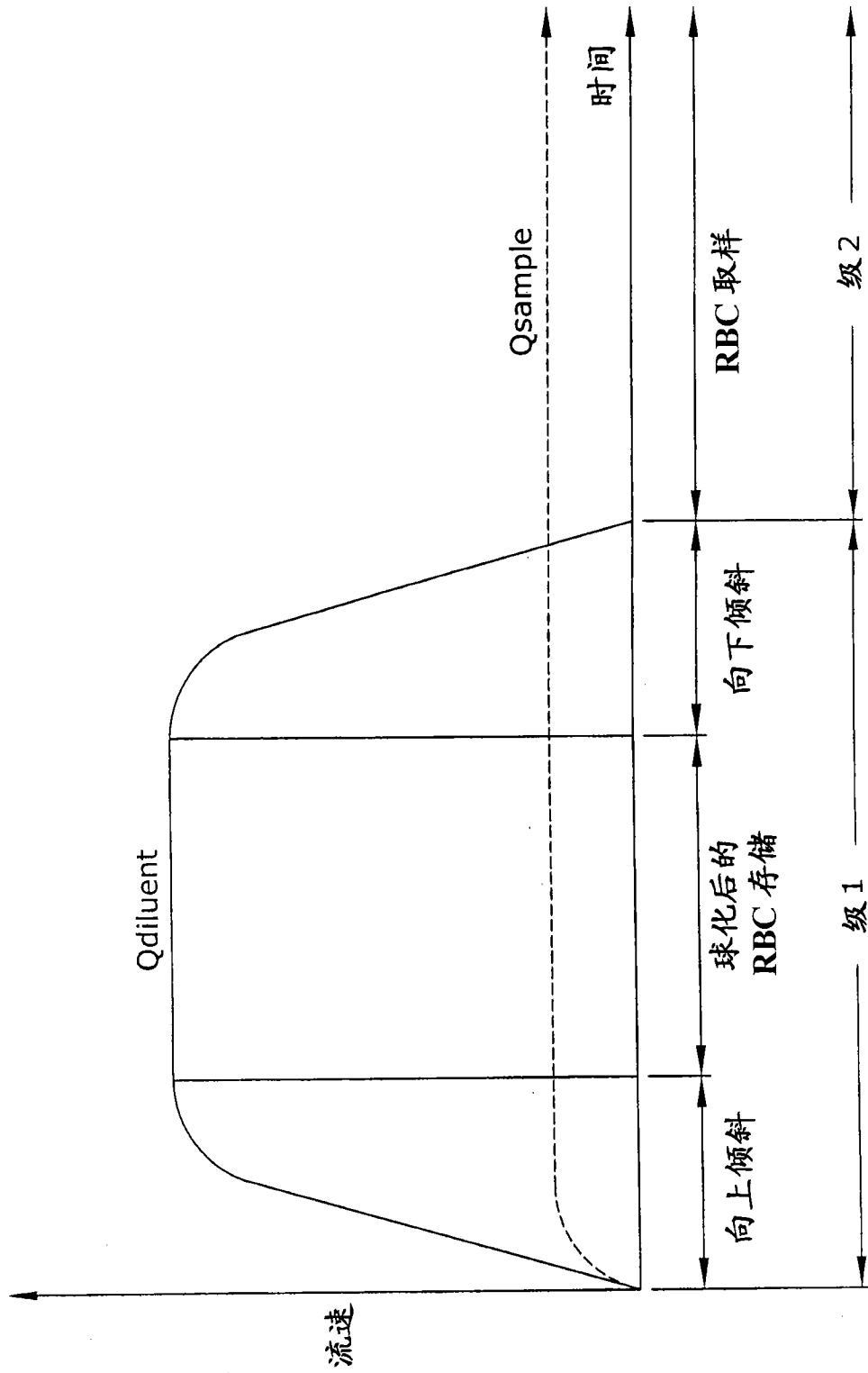


图 22

稀释	级 1 稀释液流速 { $\mu\text{l}/\text{min}$ }	细胞符合率 {%}	球化后的 RBC 溶液存储{ μl }
600 比 1	1800	2.5	3.6
300 比 1	900	4.8	1.8
200 比 1	600	6.5	1.2
100 比 1	300	>15	0.6

图 23

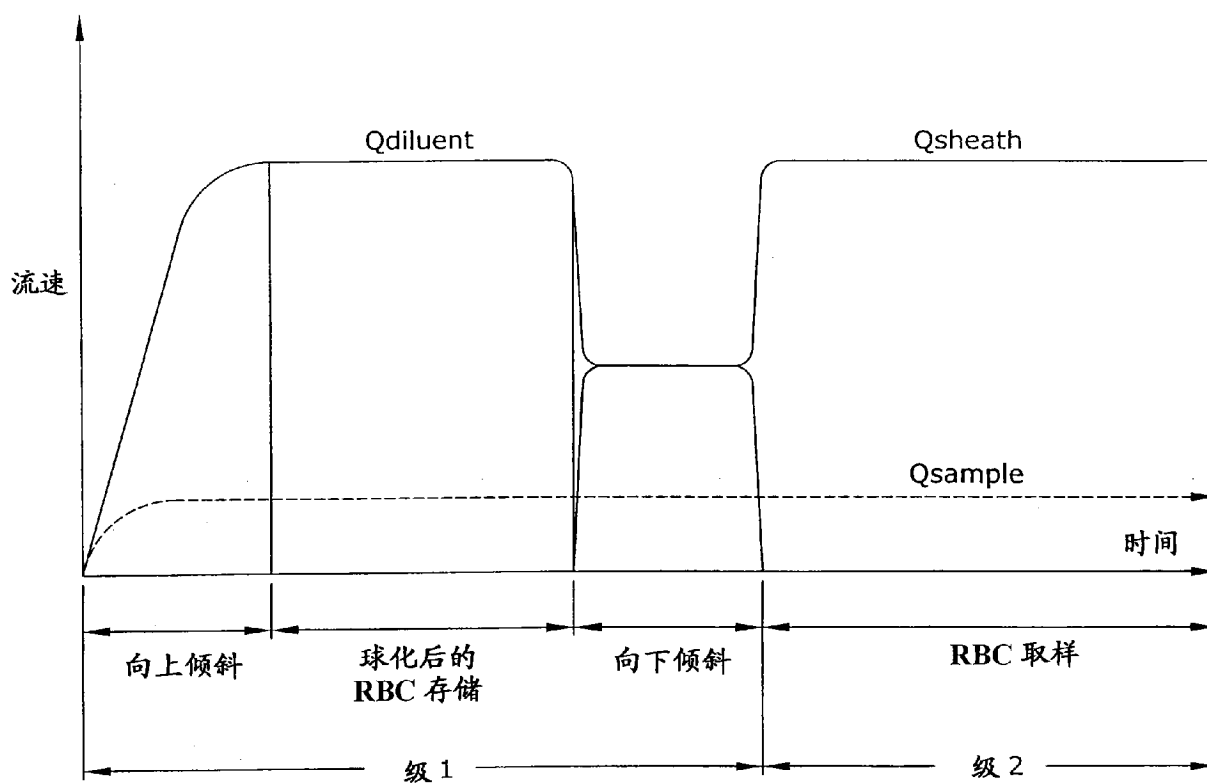


图 24

稀释	试样流速 { $\mu\text{l}/\text{min}$ }	级 1 稀释液流速 { $\mu\text{l}/\text{min}$ } = 防护流速	细胞符合率 {%}	用于 15,000 个计数的取样 时间{sec}	10 秒内存储的球化 后的 RBC 溶液 { μl }
333 比 1	1.5	500	1.5	60	83
267 比 1	1.5	400	2.2	48	67
167 比 1	3	500	2.8	30	83
133 比 1	3	400	4	24	67

图 25

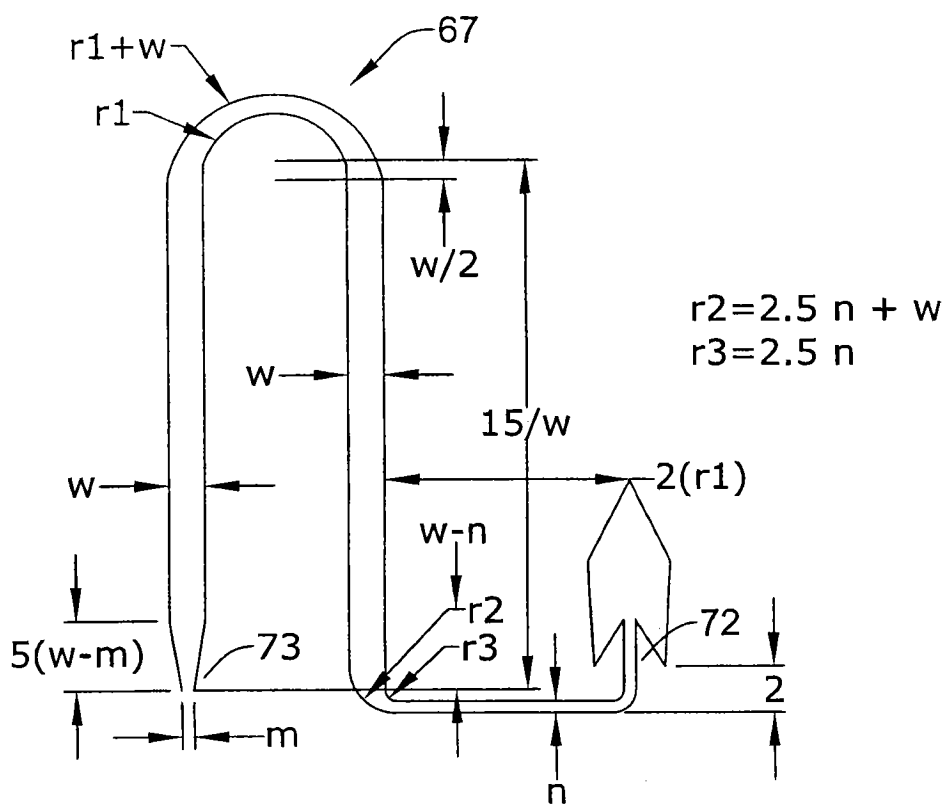


图 26

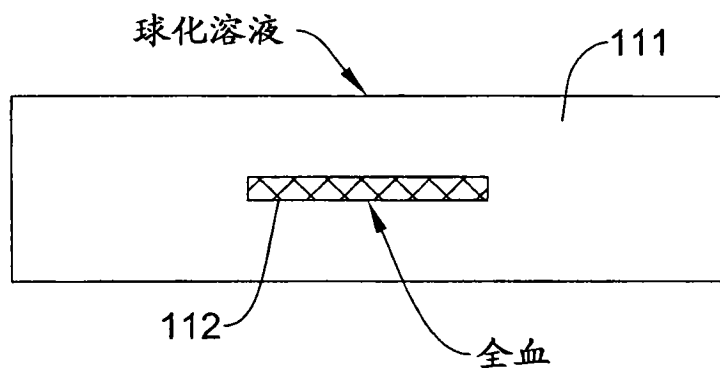


图 27

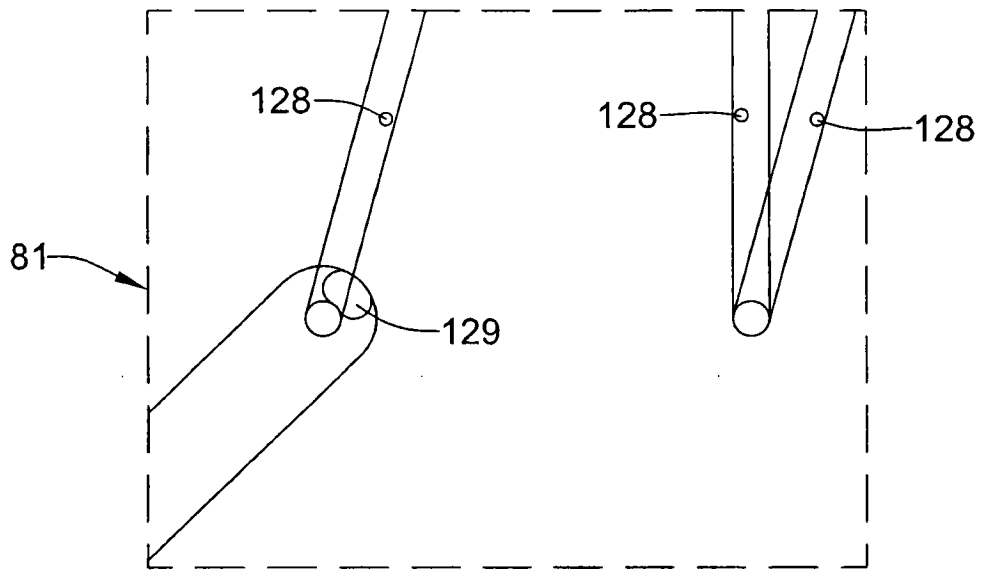


图 28A

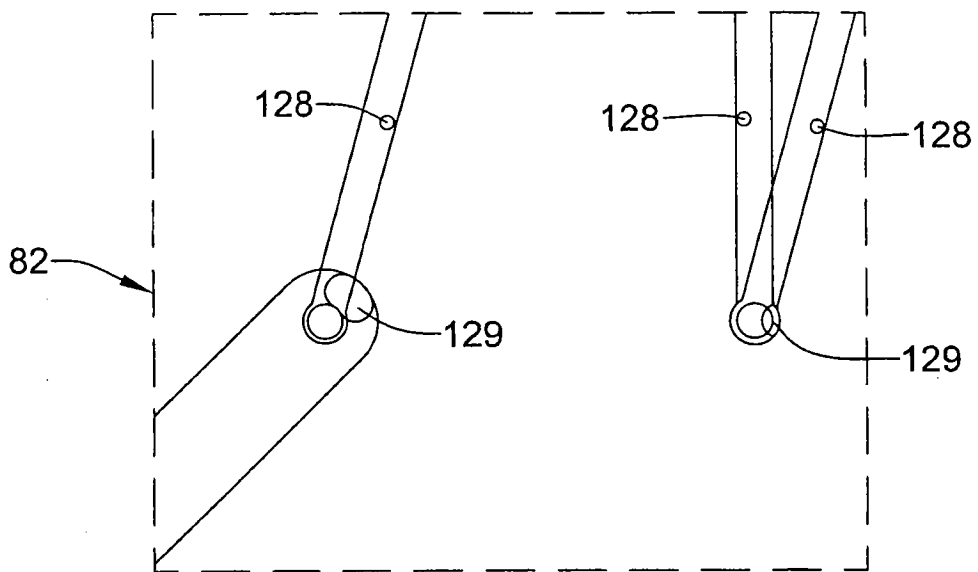


图 28B

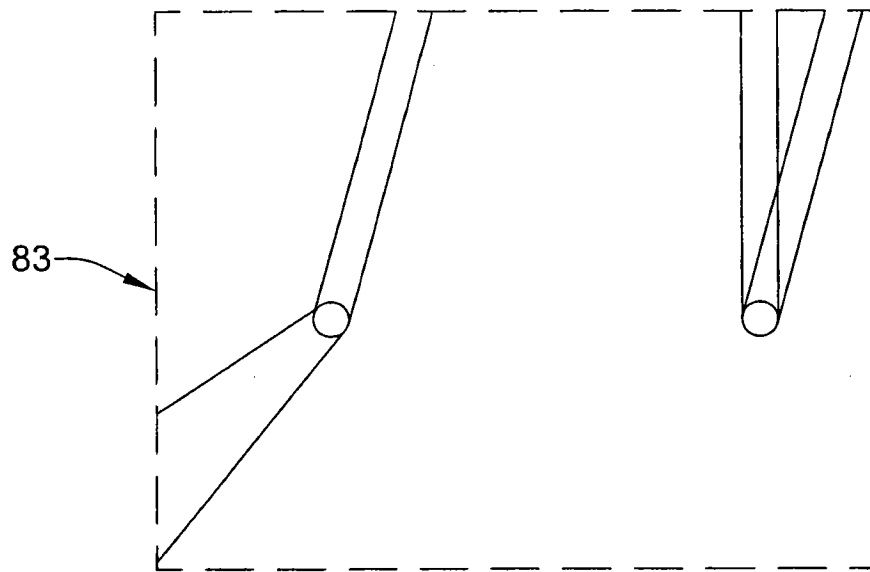


图 28C

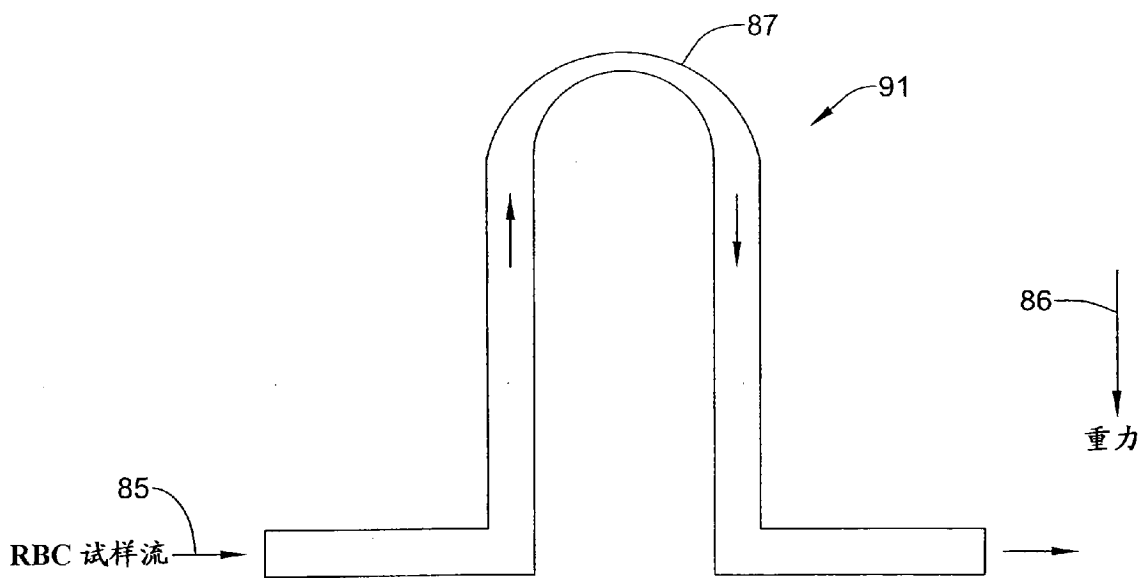


图 29

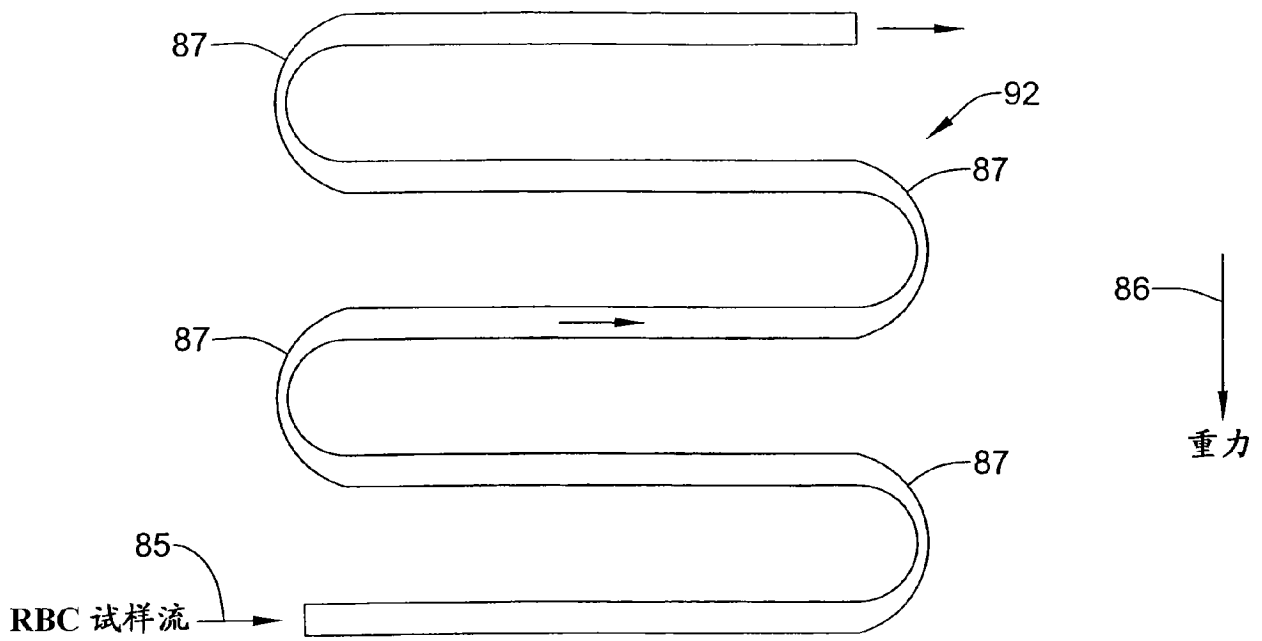


图 30

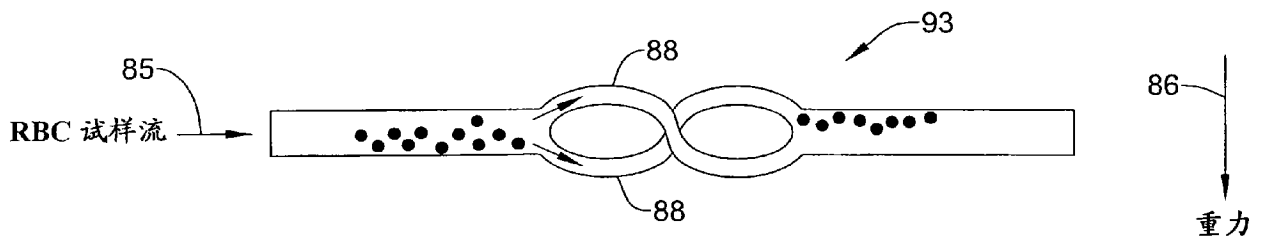


图 31

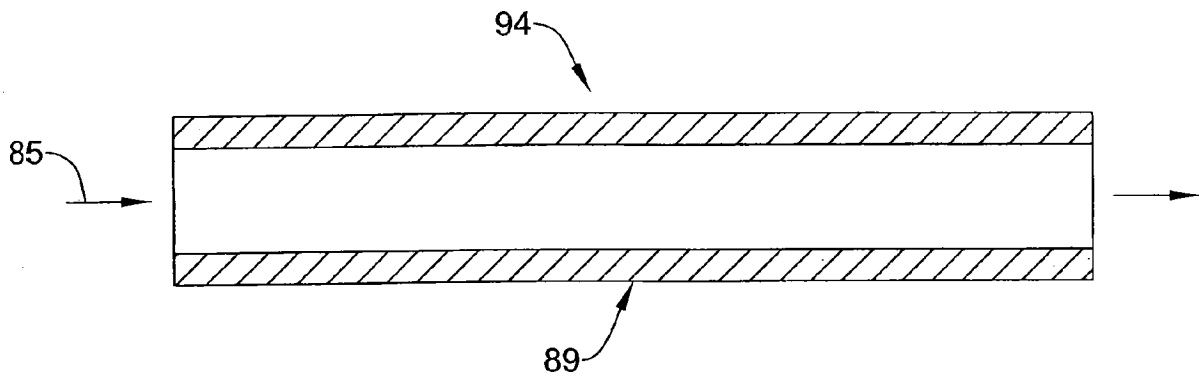


图 32

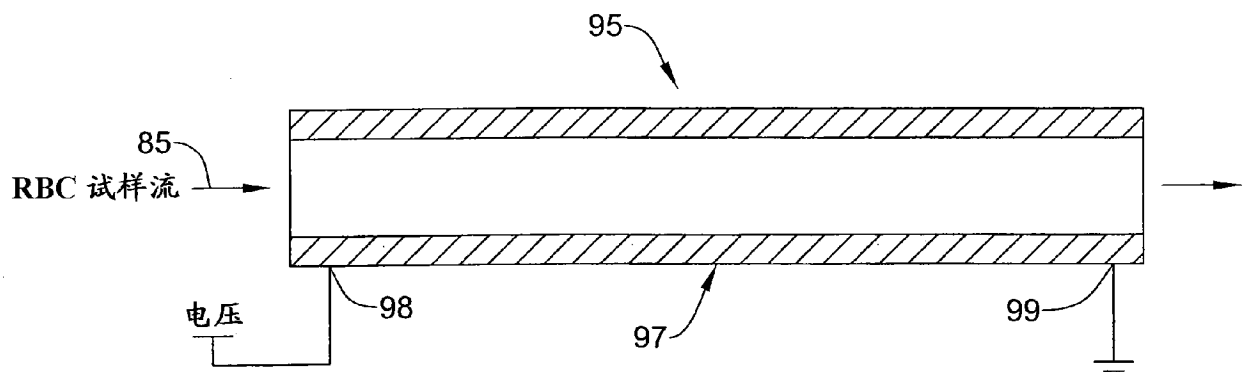


图 33

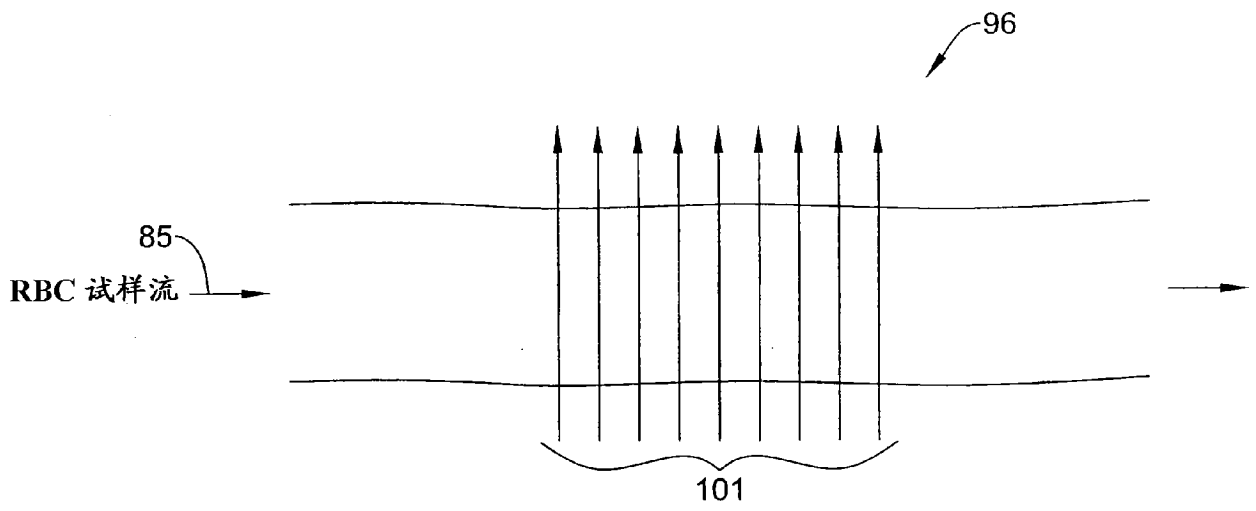


图 34

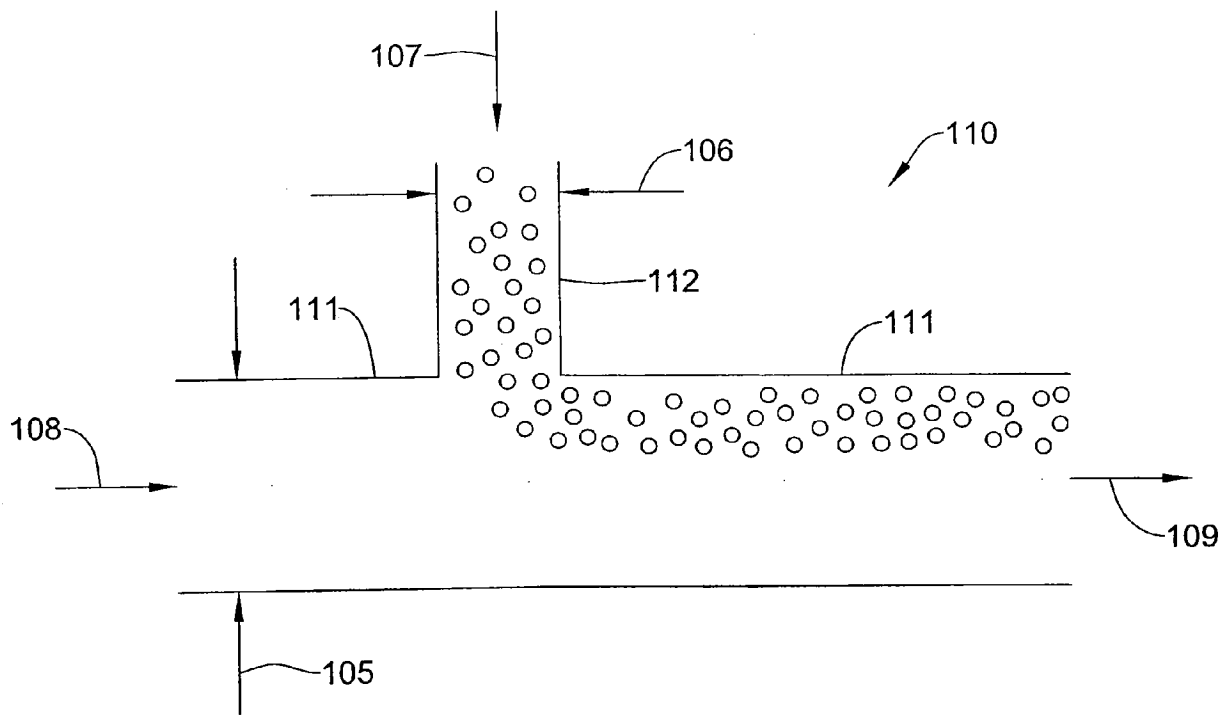


图 35

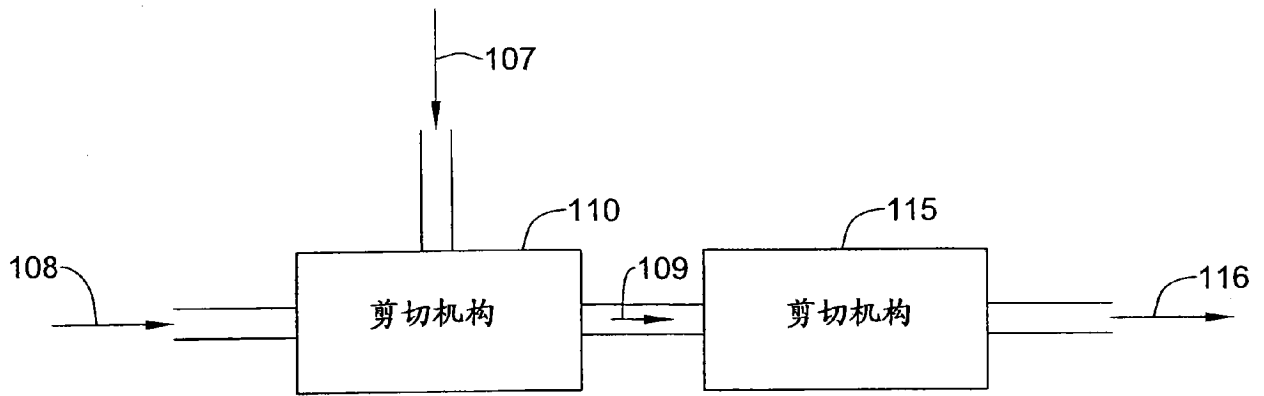


图 36