



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101140228 B

(45) 授权公告日 2011.08.17

(21) 申请号 200710149286.X

(22) 申请日 2001.05.24

(62) 分案原申请数据

01823286.8 2001.05.24

(73) 专利权人 M.E.S. 医学电子系统有限公司

地址 以色列凯撒里亚

(72) 发明人 阿贝·基斯勒弗 列夫·拉比诺维奇

(74) 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司 11127

代理人 李辉

(51) Int. Cl.

G01N 21/59(2006.01)

G01N 33/487(2006.01)

B01L 3/00(2006.01)

G01N 15/06(2006.01)

G01N 21/03(2006.01)

(56) 对比文件

JP 特开平 10-185814 A, 1998.07.14,

US 4937461 A, 1990.06.26,

EP 0905506 B1, 1999.03.31,

US 4896967 A, 1990.01.30,

DE 19713249 A1, 1998.10.01,

CN 1291227 A, 2001.04.11,

GB 2130718 A, 1984.06.06,

US 4176953 A, 1979.12.04,

US 5402240 A, 1995.03.28,

US 4088448 A, 1978.05.09,

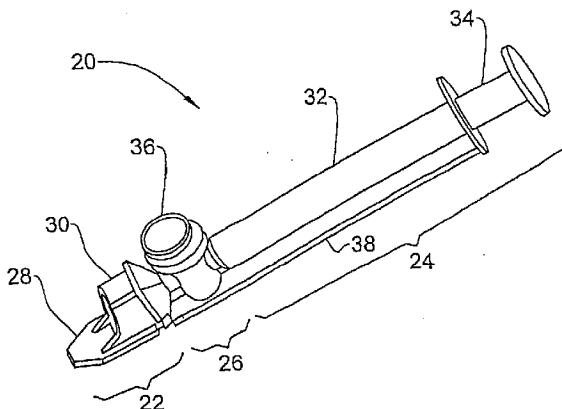
审查员 支辛辛

(54) 发明名称

精液分析

(57) 摘要

一种用于测量样本中的总体精子浓度 (TSC) 的方法，其包括：(i) 将所述样本放在同步脉冲光源与光电检测器之间的透明容器中；和 (ii) 测量所述样本在 800–1000nm 的范围内的光吸收率，所述样本的 TSC 与所述吸收率成正比。还公开了一种用于在对生物体液进行光学分析时使用的采样设备、一种用于测量精液样本中的游动精子浓度 (MSC) 的方法、一种用于确定精子细胞的平均速度 (AV) 的方法，以及一种用于精液质量的系统，该系统包括用于测量 TSC 的装置、用于测量 MSC 的装置和视频目测系统。



1. 一种用于测量精液样本中的游动精子浓度 (MSC) 的方法, 其包括 :

(i) 将所述样本放在光源与光电探测器之间的透明容器中, 其中样本中的精子运动调制了从中透过的光, 从而产生了模拟电压信号的波形;

(ii) 对所述信号采样以便生成多个信号样本;

(iii) 通过波形选择过程来选择可接受的信号样本;

(iv) 为每个可接受的信号样本计算绝对值;

(v) 计算所述绝对值的平均值  $a$ ; 以及

(vi) 根据平均值  $a$  计算 MSC。

2. 根据权利要求 1 的方法, 其中, 根据代数表达式  $MSC = Aa^2 + Ba$  来计算 MSC。

3. 根据权利要求 2 的方法, 其中, 根据代数表达式  $MSC = 0.0047a^2 + 0.869a$  来计算 MSC。

## 精液分析

[0001] 本申请是申请号为 01823286. 8 (PCT/IL01/00475)、申请日为 2001 年 5 月 24 日、发明名称为“精液分析”的发明专利申请的分案申请。

### 技术领域

[0002] 本发明涉及精液分析。

### 背景技术

[0003] 根据 WHO 的统计，在所有婚后的夫妻中有 8-10% 在怀孕失败后会向医学专家咨询。超过 40,000,000 对夫妻目前正在接受不育症的治疗。在这些不育的夫妻中，据估计这些夫妻有 40% 的不育症是由于男性诱因造成的，另外有 20% 是由于男性和女性组合诱因造成的。精液分析是评测男性诱因中的一项主要技术。

[0004] 标准的精液分析规程涉及至少三个主要精液参数的确定：

[0005] 1. 总体精子浓度 (TSC)；

[0006] 2. 游动精子百分数；以及

[0007] 3. 正常精子形态百分数。

[0008] 实际上，作为人类男性生育医学中的关键因素，精液分析从 20 世纪 30 年代以来就没有改变过，至今仍旧是通过显微镜观测来进行。事实上，这是非常少的仍旧几乎完全由手工方法执行的试管体液分析之一。

[0009] 这种手工方法包括仔细地观察精子细胞、对它们进行计数以确定它们的浓度、对它们的活力进行分类、辨识它们的形态，等。这项工作需要很高的专门经验，是非常高强度的劳动，如果按照标准规程，一次测试至少要花费一个小时。

[0010] 由于众多的误差源，业已知道手工评定是十分不精确的。主要的误差源是：

[0011] ● 观察者的主观性。

[0012] ● 不同实验室中和由不同观察者使用的变化的准则。

[0013] ● 由于所分析的精子的数量有限造成巨大的统计误差。

[0014] WHO 手册 (WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4<sup>th</sup> edition, Cambridge University Press, 1999) 建议观察不少于 200 个精子并且对每个的形态和活力进行分类。由于这项工作的冗长乏味和耗时特征，其本身就是一个引入误差的过程。事实上，至多分析了 50 到 100 个精子细胞。即使观察者没有引入误差，统计误差本身也将达到百分之好几十。

[0015] 作为上述方法的结果，世界上都已意识到精液分析测试结果是高度主观、不够精确而且再现性很差的。实验室间和技师间的变动具有很大影响，以至于这个问题对于男性生育医学是主要关注的问题，并且仍旧是在有关这一课题的大量论文集、专业会议和会议中讨论而尚未解决的课题。

[0016] 为了克服这些困难，医疗仪器公司已经引入基于图像分析的专用的计算机化系统 (CASA- 计算机辅助精液分析仪)。这些系统需要极高质量的图像，因为其所有结果都是基

于图像处理的。尽管这些系统已在尝试取代手工分析并建立行业认可的标准,但在这些目标的任何一个上都还没有成功。

[0017] 由于分析结果还有赖于手工设置和不同的设备构成,第一个目标不能实现。取代常规的手工分析总体上是不可行的,因为这些系统极其昂贵、又很复杂,而且难于使用。事实上这种系统通常不会出现在常规的精液分析中,相反,几乎完全出现在研究中心、大学医院里,偶尔也出现在高等专科生育中心中。

[0018] 在第 4176953 号和第 4197450 号美国专利中介绍了另外的用于精液测量的方法,这两个专利的全部内容已合并于此。这些专利说明了一种用于使用电子 - 光学装置和模拟信号分析仪来测量精子活力的方法。持续检查预定范围内的精子细胞的悬浮,以便检测由精子的运动所致的光强的变化。响应于这种变化,产生了调幅的模拟电信号,在预定时间周期内对该信号的峰和谷进行计数来提供一称为 Sperm Motility Index (SMI) (精子活力指标) 的抽象参数。该参数与活力相关并且给出了正比于游动细胞的数量与它们各自速度的乘积的数据。

[0019] 一种称作 Sperm Quality Analyzer (SQA) (精子质量分析仪) 的自动化精子分析仪提供 SMI 参数,已经在市场上销售多年。该分析仪以下述方式使用:使用一次性容器来采集精子样品,该容器一端有一橡皮泡以抽吸样本,另一端有一细测量隔室。在抽吸样本后,将测量隔室插入 SQA 中,就自动地确定了样本的 SMI。尽管在某些应用中有用,医疗团体仍未明显接受 SMI 参数作为对传统的使用显微镜的精液分析的可行替换方案。

[0020] 作为常识,在兽医学生育分析的某些领域中,是通过测量样品的光学混浊度来评测总体精子浓度 (TSC) 的。这种方法的物理原理就在于:与周围的精液浆相比,精子细胞更不透明,因此样品对光束的吸收就与 TSC 成正比。

[0021] 例如,第 4632562 号美国专利公开了一种测量精子密度的方法,该方法通过测量含有精子的样本的光吸收率并且通过使用至少三个求和通道将该吸收率输出信号与所述密度相关联来进行。这一公开的方法通常用于牲畜繁殖业中的人工授精,其将测量 400–700nm 范围内的光吸收率。

[0022] 不过,由于下述原因,对于人类用途尚未并且不能采纳这项技术:

[0023] (1) 正常范围(以及甚至高于正常情况的范围)中的人类精子浓度比大多数兽医学对应物的精子浓度(其中已经采用了这项技术)要低一个量级以上。

[0024] (2) 即使在精子浓度远低于它们的正常水平时,人类患者仍要治疗。对于动物,情况当然就不是这样了。不育的动物通常被挑出——无论如何,它们不会因为不育症而接受治疗。

[0025] (3) 人类中的 TSC 是一参数,其本身对于生育研究而言完全不充分,在标准的精液分析规程中为获得所有其它的数据,显微镜分析无论如何都是需要的。更大程度来说,这也适用于兽医学应用。这个事实使得光吸收率测量显得多余,而且在该领域还没有投入真正的工作。

[0026] 因此,需要一项用于测量人类精液中的 TSC 的简单而又客观的技术。

[0027] 根据 WHO 手册,精子活力评定(被大多数人认为是最重要的单独精液参数)可以在显微镜下使用格栅系统手工完成,或者另选地使用 CASA 来完成。

[0028] CASA 提供了某些优于手工方法的优点。不过,定量数据的精度和提供完全依赖于

精确的精液制备技术和仪器设置。这些因素（高级的专门技术和复杂的环境）加上这种仪器高得惊人的价格实际上将其应用排除在常规的精液分析之外。

[0029] 第 4896966 号美国专利公开了一种用于区分液体中的精子、细菌和粒子的运动特征的活力扫描仪。该扫描仪包括：光学系统，其包括准直透镜、聚焦透镜、成像透镜和一对反射元件；照明光源；辐射传感装置；信号处理装置；以及显示装置。成像透镜在其物平面处具有至少大约 0.2mm 的有用景深。

## 发明内容

[0030] 本发明的一个目的是提供一种用于测量 TSC 的方法。

[0031] 本发明的又一目的是提供一种用于确定游动精子浓度 (MSC) 和活力百分数的方法。

[0032] 本发明的再一目的是提供一种用于在精液参数的确定中使用的采样设备。

[0033] 本发明的另一目的是提供一种用于确定精液参数的系统。

[0034] 在本发明的第一方面中，提供了一种用于测量样本中的总体精子浓度 (TSC) 的方法。该方法包括：(i) 将样本放在同步脉冲光源与光电检测器之间的透明容器中；和 (ii) 测量样本在 800–1000nm 的范围内的光吸收率，样本的 TSC 与所述吸收率成正比。

[0035] 本发明的方法提供了一种客观的 TSC 测量，其不依赖于图像分析，并且可以测量人类 TSC。不过，本方法还可用于测量动物 TSC。

[0036] 在本发明的第二方面中，提供了一种用于在光学分析生物体液中使用的采样设备，其包括：

[0037] (i) 抽吸器，用于将体液抽吸到所述设备中；

[0038] (ii) 细测量腔室，其具有上、下壁，壁间距离在 100–500 微米的范围内；

[0039] (iii) 粗测量腔室，其具有上、下壁，壁间距离在 0.5–3cm 的范围内；和

[0040] (iv) 用于将空气排出测量腔室的装置。

[0041] 在优选的实施例中，生物体液是精液，最优先的是人类精液。所述设备既用作采样器又用作双重测试腔室，使得 TSC 和 MSC 的测试可以同时进行。对于任何测量都不需要稀释。这不仅节省了劳动，而且还消除了一大误差源——即，稀释不准确度。

[0042] 所述设备还使得可以（当需要时）不将样品传输到单独的观察腔室即可内置目测样品。粗的腔室也称作光学比重计。

[0043] 在本发明的第三方面中，提供了一种用于测量精液样本中的游动精子浓度 (MSC) 的方法，其包括：

[0044] (i) 将样本放在光源与光电检测器之间的透明容器中，其中样本中的精子运动调制了从中透过的光，从而产生了信号；

[0045] (ii) 采样信号以便生成多个信号样本；

[0046] (iii) 选择可接受的信号样本；

[0047] (iv) 为每个可接受的信号样本计算绝对值；

[0048] (v) 计算所述绝对值的平均值 a；以及

[0049] (vi) 根据平均值 a 计算 MSC。

[0050] 现在已经发现对穿过精液样本的光束所产生的模拟信号的波形进行分析可以提

供 MSC 的指示。使用恰当选择的准则,发现了在由所述波形覆盖的平均面积与 MSC 之间存在的相关性。根据本发明,通过分析样本的光学属性,获得了精子样本的 MSC,由于精子的活动性,所述光学属性随时间而变化。事实上这就是波形的相关部分中的平均信号幅值,这将在下面更加详细地说明。

[0051] 在本发明的第四方面中,提供了一种确定精子细胞的平均速度 (AV) 的方法,其包括:

[0052] (i) 获得如在第 4176953 号美国专利中所定义的精子细胞的精子活力指标 (SMI);

[0053] (ii) 获得 MSC;以及

[0054] (iii) 使用涉及比率 SMI/MSC 的代数表达式来计算 AV。

[0055] 下面引述 1979 年 12 月 4 日授权的第 4176953 号美国专利,其已被实现为由 Medicai Electronic Systems, Israel 生产的各种版本的 SpermQuality Analyzer(精子质量分析仪)。当应用于精液分析时,该专利提供了一种称作 SMI(精子活力指标)的参数。如在上面的专利中所公开的和在众多支撑研究中所证实的那样,SMI 是游动细胞的浓度(称作 MSC)和它们的平均速度 (AV) 的函数。为了简化起见,可以说 SMI 是 MSCxAV 的函数,或者说 AV 是 SMI/MSC 的函数。精子样本的平均速度可以提供精子活力的质量的指示。

[0056] 并非如上所述,SMI 作为 MSC 和 AV 的函数比直接相乘要更为复杂。在观察、分析和测量超过一百个精液样本后,已经找到了它们之间的正确的关联关系(公式)。概括而言,用于提取平均速度的公式可以定义为 : $AV = f(SMI/MSC)$ ,“f”是三次多项式。使用  $f(x) = 1/1000x^3 + 1/10x^2 + 0.89x$  进行处理,给出了  $r = 0.82$  的相关因子。

[0057] 应该注意,大多数精液分析规程需要关于具有进步活力 (progressive motility) 的精子百分数的数据,而非它们的平均速度。进步活力被定义为具有 5 微米 / 秒或更高的平均速度的那些精子。如果假定速度的正常分布在平均值附近,也可以容易地从平均速度提取出这一参数。即使在速度分布不正常的情况下,也不会显著地影响计算进步游动精子百分数中的误差。此外,当将不同的最小速度定义为进步游动时,这一变化的阈值很容易被引入计算中,从而给出了提供该参数时的额外灵活性。当在不同的稀释介质、周围环境温度中工作时,或者实际上处理兽医学测量中的不同样品时,这很重要。

[0058] 在本发明的第五方面中,提供了一种用于分析精子生命力的系统,其包括:

[0059] (i) 用于测量 TSC 的装置;

[0060] (ii) 用于测量 MSC 的装置;以及

[0061] (iii) 视频目测系统。

[0062] 本发明的该系统利用传统的精子目测将两个主要精子参数 TSC 和 MSC 的测量结合了起来,从而可以获得第三个参数——精子形态。在优选的实施例中,根据本发明的方法来确定 TSC 和 / 或 MSC。在另一优选实施例中,该系统还包括本发明的采样设备。

[0063] 应该强调的是,本发明的系统中所用的视频目测系统与其它的精子目测系统(例如 CASA)之间存在基本的差别。其它系统需要极高质量的图像,因为它们的结果全部建立在图像处理之上。而在本发明中,仅将目测用作补充工具,以在需要时用来观察非典型的或可疑的情况、为处理过的结果增加置信度、辨识特别的病变,以及使得可以进行手工的精子形态评定。

[0064] 为了完成这些任务,将本发明中所用的视频目测系统设计为小巧、廉价的子系统,尽管其单独使用有限,但却正好填补了本发明系统中的补充角色。与使用显微镜的过程相比,该目测系统另外的重要优点是不需要用移液管移液、制备载玻片以及稀释和填充血球计。和该目测系统一起使用本发明的设备(其兼作完整的测试腔室)将消除上述所有问题。这些特征实际上允许并且使本发明的系统可以在任何小的诊所甚至办公室环境中使用。

[0065] 视频目测系统允许人们获得下列有关被测样本的补充信息:

[0066] 1. 很低精子浓度的测量

[0067] 很低浓度(低于5,000,000个精子/ml)下的TSC测量在准确度上天生受限。这是因为:在这么低的水平下,精子细胞之外的因素造成的光吸收可能变得相对显著。光吸收可能由于精液浆可变性或存在精子之外的其它细胞引起。后者包括WBC(指示感染的白血球)和来自各种来源的其它不成熟的或非精子的细胞,等。既然根据本发明通过光吸收来测量TSC,由于上述考虑,没有目测的话,在很低的范围中有可能会有不确定性。当认为TSC在低范围中很重要时,目测可以给出对光吸收起作用的不同细胞之间的区别。由于测量MSC与光吸收率无关,可以使用目测确定的TSC参数来计算活力百分数(MSC/TSC)。

[0068] 2. 辨识精液中的外来细胞

[0069] 本系统可用于辨识可能对精液质量有影响的其它细胞的存在,和/或用于诊断患者疾病。例如,白血球指示感染,不成熟细胞指示精子发生中有问题,胶结可能是由多种原因引起的,等等。

[0070] 3. 手工的精子形态评定

[0071] 虽然本发明的系统可自动地评定具有正常形态的精子的百分数,但它仍是根据给定的准则(即,WHO准则)来进行的。遗憾的是这个准则还没有被普遍接受。这种普遍接受的准则还不存在,并且通常是应用的因素。例如,用于IVE和ICSI应用的形态准则通常比在正常情况中的要严格得多。其它的国际标准(例如严格的或Krueger准则)也在广泛应用。目测使生育执业人员可以选择他自己的准则,以及辨识出现的特定缺陷(头部变形、尾巴问题,等)。

[0072] 4. 输精管切除术验证和精子缺乏诊断

[0073] 为了完全验证输精管切除术的结果或获得精子缺乏的明确诊断,有必要确定在受评测的精液中绝对没有精子。采用光吸收技术这通常是不可能的,因为要测量的浓度可能非常低。在此情况下,为了仔细扫描较大的视域以查找单个精子细胞,手工目测是必需的。在本发明的系统中使用的精子目测系统尤其适合于最佳地解决这些应用。

[0074] 5. 硬复制

[0075] 视频目测系统使得可以“冻结”给定的挑选景象(或几个景象),接着可以将所述景象打印出来并附加到Semen Analysis Report(精液分析报告)上。这对于治疗功效的鉴定和验证具有非常大的价值。冻结选项的副产品是在静态条件下观察精液样本。这极大地方便了分析和计数的进行。在使用显微镜的评定中,这只能通过在观察前固定(杀死)精子来完成。即使那样,所有的死精子也将死在一层中,由于在所述层中的高浓度和精子重叠,这通常使分析变得复杂了。

## 附图说明

[0076] 为了理解本发明并且弄清如何实施本发明,下面参照附图,仅利用 非限制性的示例来说明优选的实施例,图中:

[0077] 图 1 是示出根据本发明测量 TSC 的方法的一个实施例的方框图;

[0078] 图 2 是根据本发明的采样设备的一个实施例的透视图;

[0079] 图 3 是图 2 中的设备的部分侧剖视图;

[0080] 图 4 是从图 3 的视图旋转 90° 后的分隔阀的剖视图;

[0081] 图 5 是根据本发明的一个实施例用于精液分析的系统的示意图;

[0082] 图 6 是示出用于计算 MSC 的算法的流程图;

[0083] 图 7 是示出用于计算平均速度的算法的流程图;

[0084] 图 8 示出作为时间的函数的游动精子的典型模拟信号;

[0085] 图 9 是 MSC 与平均模拟信号的相关性曲线;以及

[0086] 图 10 是示出根据本发明的视频目测系统的一个实施例的方框图。

## 具体实施方式

[0087] 示例 1

[0088] 如上所述,相比动物样本而言,由于精子细胞浓度较低,人类精液样本中的 TSC 的自动化光学测量过去一直受到制约。这和例如由精液浆可变性造成的高电子和光学背景噪声一起防止了兽医学生育分析中常规使用的方法的应用。本发明的方法通过结合下列特征克服了这些障碍:

[0089] (i) 将样本放置在同步脉冲光源与同步激活的光电检测器之间的透明容器中。同步脉冲光源和光电检测器的使用使得可以在电子噪声水平上辨识低浓度下的精子细胞。

[0090] (ii) 测量样本在 800–1000nm 范围中的光吸收性。已经发现测量在近红外区中的吸收性提供了用于获得精子细胞的强吸收和精液浆的弱吸收的最佳条件。优选的是,测量范围是 850–950nm。最优先的是,所述范围是 880–900nm。

[0091] 通过使用本发明的方法,可以将样本的 TSC 确定为所述吸收性的函数。尽管本发明的方法优先地用于人类精液或人类精子的样本,但其也可以用于动物精液和动物精子(优先地在适当稀释之后)。

[0092] 图 1 示出了使用本发明方法的一个实施例的光学系统的示例。总体 上用标号 2 来指示该系统,其包括:光源 4、光电检测器 6 和置于二者之间的样本盛放器 8。优选的光源可以是快开关同步脉冲发光二极管(LED),其发射近红外区中的光。所述光源可以由光强控制器 10 来控制,光强控制器 10 又由调制器 12 来调整。所述光电检测器可以检测同步脉冲光。该光电检测器将测量到的模拟信号传送给也由调制器 12 调整的解调器 14,并且从解调器 14 以数字形式把信号传送给输出 16。

[0093] 通过样本的光束路径优先地是垂直的。通过样本的光束路径的长度通常在 5 至 15mm 之间,优先的是 10mm。样本盛放器对于 800–1000nm 间的近红外区中的光波必须完全透明。制成样本盛放器的塑料材料对精子细胞必须完全无毒。优选的材料是聚苯乙烯 PG-79。优先地应该将样本盛放器设计得可完全防止在样本中有气泡渗入或形成,这会干扰光学测量。

[0094] 通过使用本发明的方法,已经实现了降至大约 2,000,000 个细胞 /ml 的 TSC 检测

水平。该水平已经指示出极端的精液病变。

[0095] 示例 2

[0096] 图 2 示出了用于在测量精液时使用的根据本发明的采样设备 20 的一个实施例。该设备包括前面的光学观察部 22、后面的抽吸部 24 和中间的空气排出部 26。

[0097] 光学观察部 22 包括细测量腔室 28 和粗测量腔室 30。所述细测量腔室用于测量 MSC 和 / 或用于目测，而所述粗测量腔室用于测量 TSC。这样，采用相同的采样设备和采样步骤可以同时测量多个参数。

[0098] 抽吸部 24 包括抽筒 32 和滑动插入其中的柱塞 34。这些部件彼此配合，如在标准的注射器中一样工作。这一部分用来将精液样本抽吸到所述测量腔室内。

[0099] 空气排出部 26 包括分隔阀 36，用于在充满后将测量腔室与抽筒容积分隔开来。所述抽吸器、细测量腔室、粗测量腔室和空气排出部都处于液体连通状态。

[0100] 矩形轨道式的调节器 38 沿设备 20 的一侧伸展，用来在将所述设备插入评测样本的光学仪器中时正确滑入和对准所述设备。它还提供了精确的电子 - 光学测量所需的机械支撑和稳定性。

[0101] 在图 3 中可以更加清楚地看到所述设备的部件。细测量腔室 28 是一内空腔，其具有光束可以透过的上 40 和下 42 平行透明壁。壁间距离在 100–500 微米的范围内，优选的是 250–350 微米，最优先的是约 300 微米。在最后一种情况中，所述腔室中的液体容量大约为 25  $\mu$  l。所述腔室的前端 44 有一开孔，通过该开孔可将样本抽入所述设备。在所示出的实施例中，所述腔室宽约 4mm。

[0102] 细测量腔室用来评测精子活力，可以位于例如与下壁 42 相对的光源与例如与上壁 40 相对的光电检测器之间。应该理解，所述光源和光电检测器也可位于腔室的相对侧。光束穿过含有精液样本的腔室。在腔室另一侧的检测器记录由运动的精子细胞引起的光强变化。然后由所述光电检测器将光强变化转变成电信号，接着电信号被传送到电子电路进行滤波、数字化和处理，以便指示 MSC。细测量腔室还可当作视频目测系统使用，这将在下面进一步说明。

[0103] 粗测量腔室 30 具有光束可以透过的上 46 和下 48 透明壁。壁间的距离在 0.5–3cm 的范围内，优选的是 0.8–1.2cm，最优先的是大约 1cm。在最后一种情况中粗的隔室所具有的近似容积大约为 0.5ml。

[0104] 该腔室用于精子浓度的电子 - 光学吸收测量。光束透过腔室的上壁和下壁并由光电检测器检测，所述光束可以与细腔室 28 的相同或不同。腔室容积应该完全充满精子样本以便避免由气泡引起的不精确性。当光束透过腔室时其衰减与精子浓度成正比。测量透过腔室后的光束强度并由电子装置将其转变成 TSC 的单位。可以交换采样设备中的两个腔室的次序。

[0105] 抽筒 32 与两个测量腔室 28&30 处于液体连通状态，从而通过拔柱塞 34，将液体抽到腔室中。这种抽吸方法允许将较大的样本容量抽吸到所述设备中。为了防止气泡残留在测量腔室中，分隔阀 36 置于所述抽筒与测量腔室之间，并且与它们处于液体连通状态。图 4 具体示出了该阀门，其包括滑动地容纳在阀套 52 中的活塞 50。连接在测量腔室 30 与抽筒 32 之间的连接孔 54 穿过活塞 50。

[0106] 当阀门处于上位时，在测量腔室和抽吸筒之间出现了连通。压下阀门则断开了所

述连通，确保没有空气残留在用于测量样本的测量腔室中，并且即便有温度变化也不会发生泄漏。这项技术相当于正位移，因为从被测的液体容积中（除了在前端 44）排除了空气。这种设计使得实际上可以处理所有粘度的样本，而同时防止了泄漏和气泡渗入要分析的样品容积中。

[0107] 尽管已经通过分隔阀示例说明了将空气从测量腔室中排出的装置，不过也可以使用其它装置，例如正位移吸管 (positive displacement pipette)。

[0108] 可以用任何对被测细胞无毒的材料来制造所述设备的所有部件。优选地，材料要相对便宜，比如塑料材料，以便所述设备可以用后即弃。一种可以用来生产该设备的聚合物的示例是聚苯乙烯 PG79。分隔阀、抽筒和活塞可由聚丙烯制成。由于在细测量隔室中的精液液体的面积与容积的比率非常高，所以这一部分也是目前为止所述设备的对毒性最为敏感的部件。

[0109] 为了将样本抽吸到设备 20 中，将细测量隔室 28 的尖端 44 浸入精液样本约 5mm 深，然后精液样本经过分隔阀 36 被抽吸到所述设备中。完全充满所述设备只需大约 0.6cc。然后推下分隔阀，并且可以将所述设备插入光学测量设备中。

[0110] 示例 3

[0111] 如上所述，根据本发明的 MSC 的确定需要生成正比于 MSC 的电压信号。图 5 示出了用于精液分析的可以生成这种信号的系统的一个实施例。

[0112] 具有矩形截面的光学毛细管 100 用于容纳精液样本 102。利用由光源 110 产生的入射光束 105 来照明毛细管 100。毛细管 100 具有光束 105 从中穿过的 300 μm 光程。在穿过该毛细管后，散射光束 106 由直径为 70 μm 的圆孔 108 准直。准直光束 107 照射在光电检测器 115 上。光电检测器 115 产生正比于光束 107 的强度的模拟电压信号 120。由于精液样本 102 中的精子的活动，该模拟信号随时间变化，如在图 8 中举例示出的那样。模拟信号 120 被输入到模数转换器 125，模数转换器 125 按照例如 8000Hz 的速率对模拟信号 120 进行采样并生成数字输出信号 128。可将该数字输出信号存储在存储器 130 中。样本 102 中的精子运动导致了对光束 107 的强度的调制，这进而影响了模拟信号 120 和数字信号 128。

[0113] 配置处理器 135 来对存储在存储器 130 中的数据进行分析，以便给出精液样本 102 的分析。该分析的结果可以显示在任何显示器上，例如个人计算机 145 的 CRT 屏幕 140 上，或所述测量设备的内部 LCD 屏幕 148 上。

[0114] 图 6 显示了根据本发明由例如图 5 的处理器 135 执行的用于计算 MSC 的算法的一个实施例的流程图。

[0115] 在步骤 200 中，采用数字方法对图 5 中的数字信号 128 进行滤波，以便去除与信号的主频不相关的高频和低频，信号的主频由精液样本 102 的活动特性确定。进行这一步骤是为了使信噪比最佳化。信号 128 的 DC 分量也被去除。例如，对于人类精子样本，发现最佳的相关频率范围在 5–30Hz 之间。在步骤 205 处，排除其绝对值低于第一预定阈值的数字样本，第一预定阈值可以根据经验确定。在步骤 210 处，从所有剩余样本中减去了相同的阈值。

[0116] 在步骤 215 中，执行波形选择过程以删除所有由于假相产生的波形，例如由非相关细胞等产生的波形。对于人类精子的波形选择的优选实施例是去除所有不满足下列准则的波形：

[0117] 最小高度——10 毫伏。

[0118] 最小宽度——37.5 毫秒。

[0119] 最大宽度——500 毫秒。

[0120] 最小上升 / 下降时间——2.5 毫秒。

[0121] 精子相关波形的起点和终点的正确定义（和检测）被定义为波形方向出现重大变化的点。在两个这种点之间的时间差定义了给定波的时间宽度。可以通过参照图 8（未按比例绘制）来理解挑选的方式，图 8 示出了作为时间的函数的模拟信号（图 5 中的 120）的幅值。根据经验来确定阈值 302，以便提供输出信号与用显微镜测量的 MSC 之间的最佳线性度。将用于计算 MSC 的波形标记为 304、305、306 和 307。根据各种不同原因 排除了其它波形：308 是由于其峰值低于所述阈值；310 是由于其太宽；312 是由于其太窄。

[0122] 在图 6 的步骤 220 中，计算了所有选定样本的绝对值，并且在步骤 225 中，计算了所述绝对值的平均值  $a$ 。在步骤 230 中，根据平均值  $a$  计算了样本 102 的 MSC。举例来说，发现 MSC 对  $a$  的依赖性可由形式如下的线性方程来描述：

[0123]  $MSC = \alpha a$

[0124] 其中， $\alpha$  是根据经验得出的常数。在优选的实施例中，MSC 对  $a$  的依赖性可由形式如下的二次方程来描述：

[0125]  $MSC = Aa^2 + Ba$

[0126] 参照图 9，根据本发明分析了一特定的人类精子样本。发现 MSC 对  $a$  的依赖性可由下面的代数表达式来描述：

[0127]  $MSC = 0.0047a^2 + 0.869a \quad (I)$

[0128] 对于小的  $a$  值发现存在良好的线性相关性。使用公式 (I)，整个范围上的新鲜精子的相关因子 ( $r$ ) 都大于 0.98。

[0129] 还使用解冻后的样本、冲洗过的样本、稀释过的样本（用 3% 柠檬酸钠和 3% 测试蛋黄缓冲液 (Test Yolk Buffer) 稀释）以及含有最多达 20% 甘油的样本（具有人为提高的粘度），对具有不同粘度的处理过的精液样本进行了分析。发现不同的样本粘度（和由此影响的精子速度）没有明显影响 MSC 与平均信号之间的相关性（在所有情况下  $r$  都保持在 0.96 以上）。

[0130] 使用离心浓缩技术，对很宽范围的游动人类精子浓度（最高达 250M/ml）进行了测量。没有发现明显的饱和。这种在最高范围处的轻微非线性度由上面给出的简单的二次多项式修正容易地修正了。

[0131] 还进行了牛的精液的分析，牛的 MSC 与同样平均的信号之间的相关因子（与用于人类的相同的方法）提供了同样优良的结果。不过要指出的是，测量前必须稀释牛的精液。这是由于它们的 MSC 通常比人类的 MSC 高一个量级。

[0132] 示例 4

[0133] 如上所述，平均速度是 SMI 和 MSC 的函数。参照图 7，在步骤 235 中计算出了 SMI。例如，这可以如在第 4176953 号美国专利中所公开那样或者使用 SQA 分析仪来完成。在步骤 240 中，采用任何已知的方法来计算 MSC。在优选的实施例中，采用本发明的算法来计算 MSC（参看上面的示例 3）。在步骤 245 中，使用涉及 SMI/MSC 比率的代数表达式来计算平均速度 AV。在一个实施例中，使用如下代数表达式来计算 AV：

$$[0134] \quad AV = 0.001 \left( \frac{SMI}{MSC} \right)^3 + 0.1 \left( \frac{SMI}{MSC} \right)^2 + 0.89 \left( \frac{SMI}{MSC} \right)$$

[0135] 在步骤 250 中, 将结果显示在显示器 145 或 148(图 5) 上。

[0136] 示例 5

[0137] 图 10 示出可以与本发明的分析系统一起使用的视频目测子系统 (VVS) 的一个实施例。精液样本 300 放在漫射的相位对比照明装置 305 之前。可以将样本盛放在标准的实验室载玻片或涂片上, 或者可以将样本盛放在根据本发明的采样设备中。从照明装置 305 发出的光穿过样本 300 并且穿过可切换双透镜系统 310, 优选地放大了 20 和 40 倍。接着将放大后的光传输到微型 CCD 摄像机 315。所得到的图像可以显示在内置的内部观看屏 320 上, 或者显示在诸如 PC、屏幕、打印机等的外部显示装置 325 上。

[0138] 在优选的实施例中, 在本发明的采样设备周围, 尤其是在细测量隔室周围建立了 VVS。该特征的目的是不需额外制备即可将该项功能并入正常的测试过程中。只需简单地把在其上进行自动化测试的注入精液的设备不改变地插入观察窗处。不过, VVS 并不限于和本发明的采样设备一起使用, 而是可以和标准的实验室载玻片或涂片一起使用。

[0139] VVS 的前端类似于显微镜的前端。根据应用 (x20 或 x40) 有两个物镜可供选择以使放大率和视域最佳化。不过, 来自物镜的图像传给了微型 CCD 摄像机而非显微镜的目镜。CCD 的尺寸 (对角线) 是 6mm。观看屏是 100mm LCD。这提供了大约 17 倍的视频放大。这实际上给出了 340 或 680 的潜在的整体放大。尽管只有 200 和 400 的放大因子是需要的, 但仍选择了该设置, 以便可以在更小的结构中达到上述放大。例如, 这对于小巧而鲁棒的桌面单元是理想的 (减小指定图像的距离降低了其所 需的放大)。

[0140] 可以选择镜头和它们的放大率设置, 从而可以改变“物距 (workingdistance)”(从物体到镜头), 以使扫描遍及细测量隔室的整个深度 (例如, 300 微米)。这与正常的显微镜观察相反, 后者无需这种扫描, 因为物体通常封在深度仅 20 微米的载玻片中, 不用扫描或重新调焦就可观察整个深度。

[0141] 如上所述, 可以选择 200 或 400 整体放大因子。当有必要辨识非精子细胞 (白血球、圆形细胞等) 以及研究和评测精子细胞的各种形态病变 (胶结、不成熟细胞、精子头部或尾部缺陷等) 时, 选择 400 的放大率。200 的放大率适合于细胞计数——不考虑其是精子或其它细胞。较低的放大提供了较大的视域 (4 倍大), 从而提供了改进的计数统计。冻结图像的可能性大大增强了两种应用。

[0142] 为了使用 VVS 便于进行细胞计数和获得正确的定量结果, 在优选的实施例中, 可以将标定的栅格直接绘制在 LCD 观看屏上。栅格包括 2cm 的正方形, 其相当于注入精液的测量隔室中 0.1mm 的放大前尺寸 (放大因子 200)。这种方法避免了在测量隔室本身上精确地绘制细小的栅格的这一非常困难的任务。上述昂贵的解决方案被并入 Mackler CountingChamber 以及某些其它的血球计中, 这阻碍了它们作为一次性用品的使用。在本发明中, 这是不必要的, VVS 使栅格可以成为观看屏的一部分。

[0143] VVS 可以用于下列应用场合 :

[0144] (a) 测量极低的精子浓度。

[0145] (b) 辨识精液中的外来细胞 (精子细胞之外的细胞)。

[0146] (c) 根据任何选定的准则的手工形态分析。

- [0147] (d) 输精管切除术功效验证。
- [0148] (e) 诊断精子缺乏。
- [0149] (f) 现场进行目测分析与计算机化结果的比较。
- [0150] (g) 提供不同精液层的固定图像的硬复制“抓拍”。固定化通过图像的电子冻结来实现。

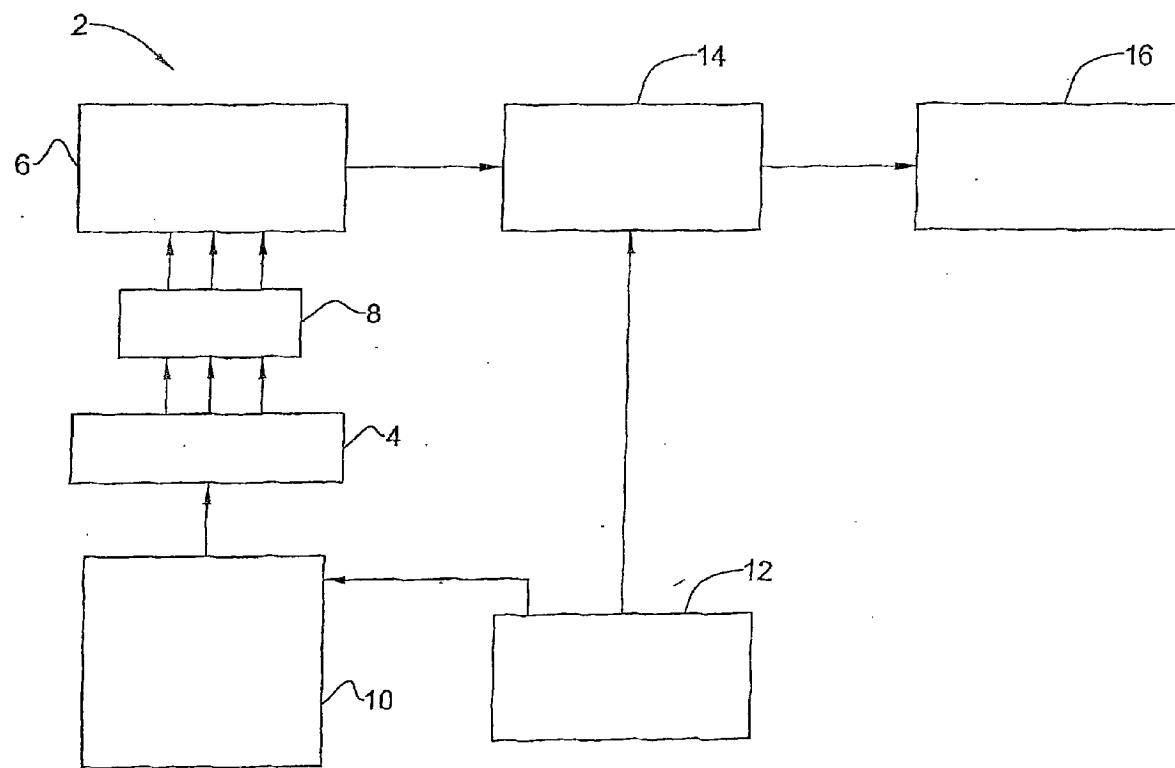


图 1

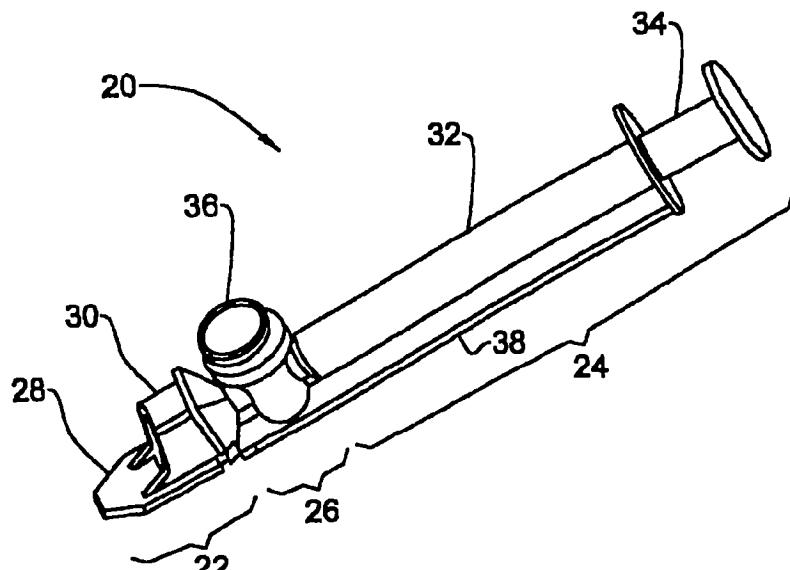


图 2

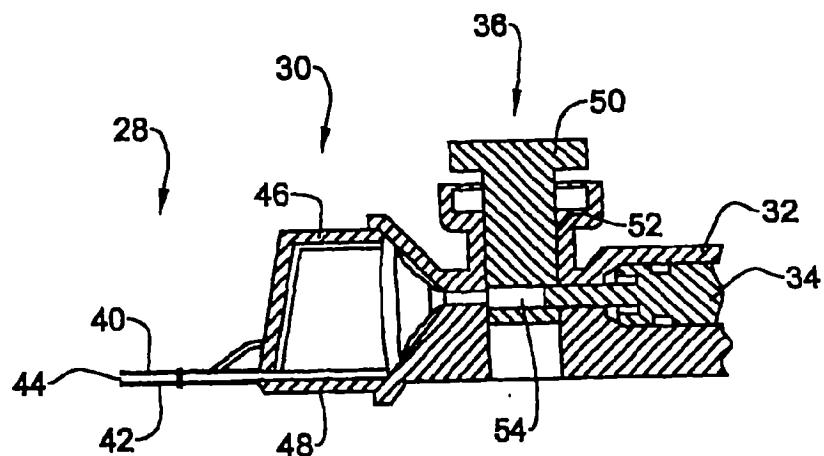


图 3

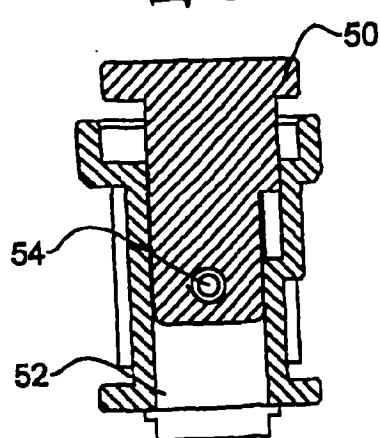


图 4

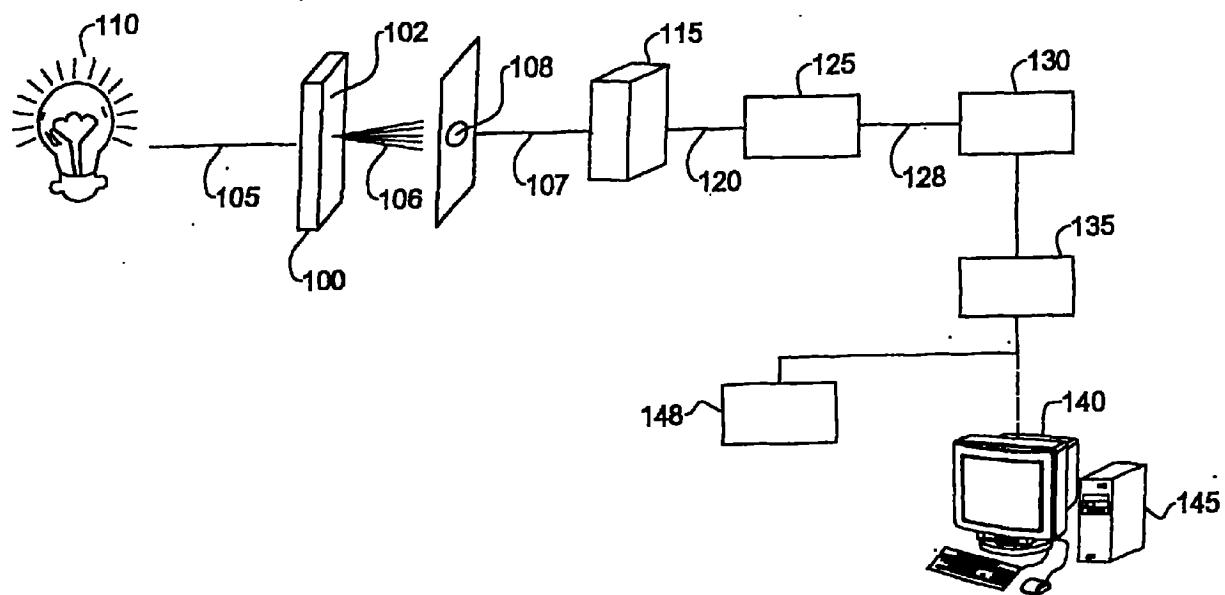


图 5

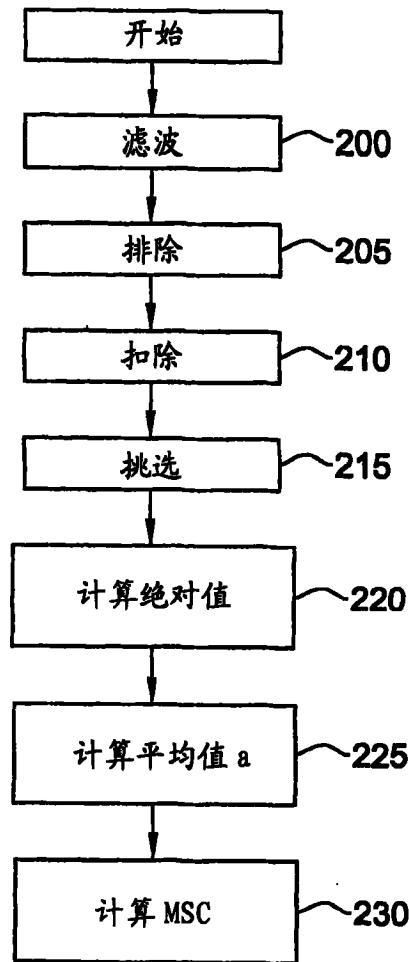


图 6

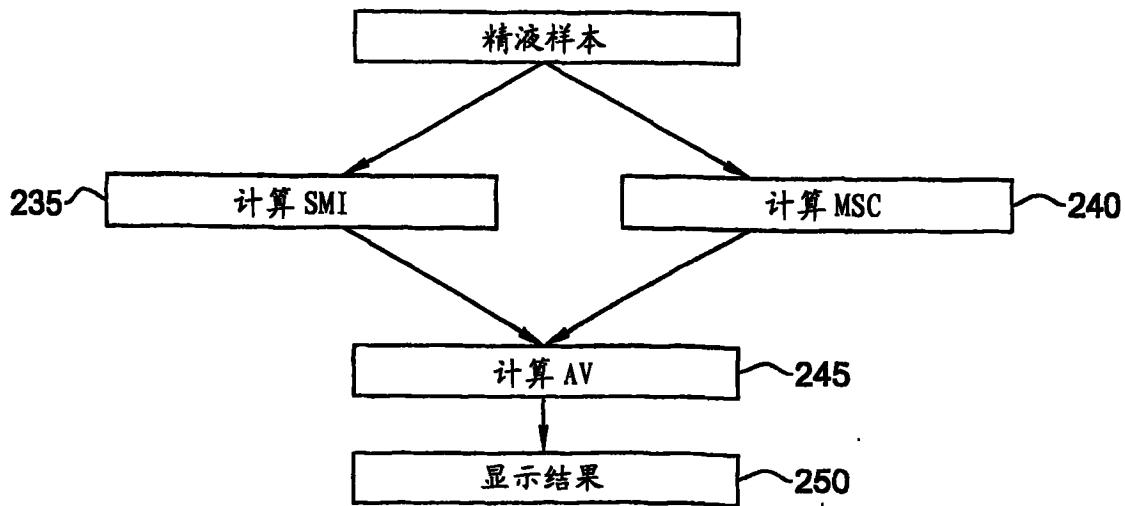


图 7

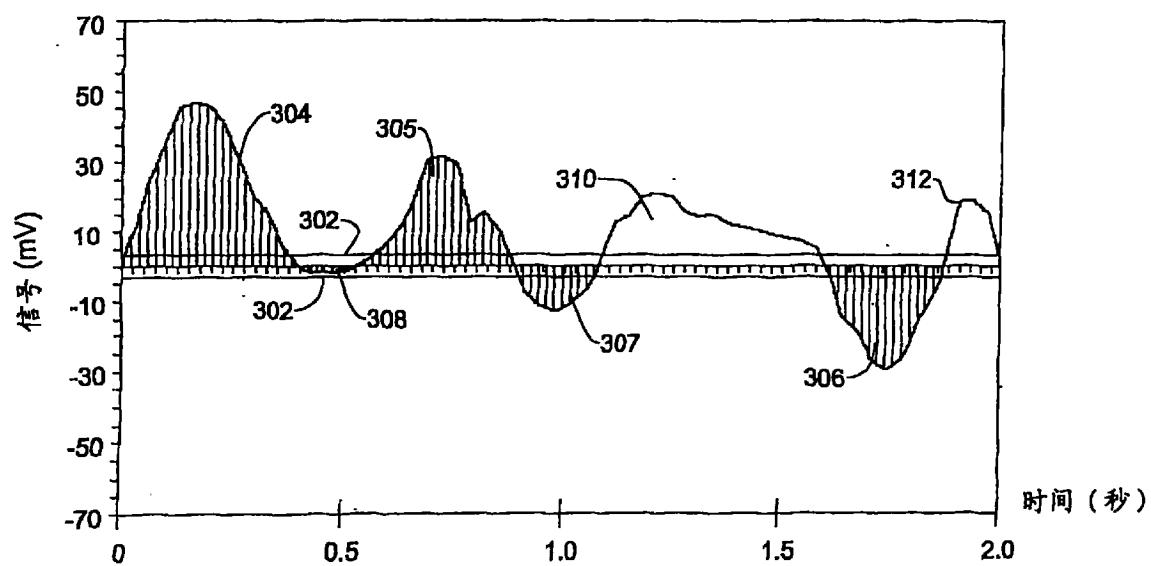


图 8

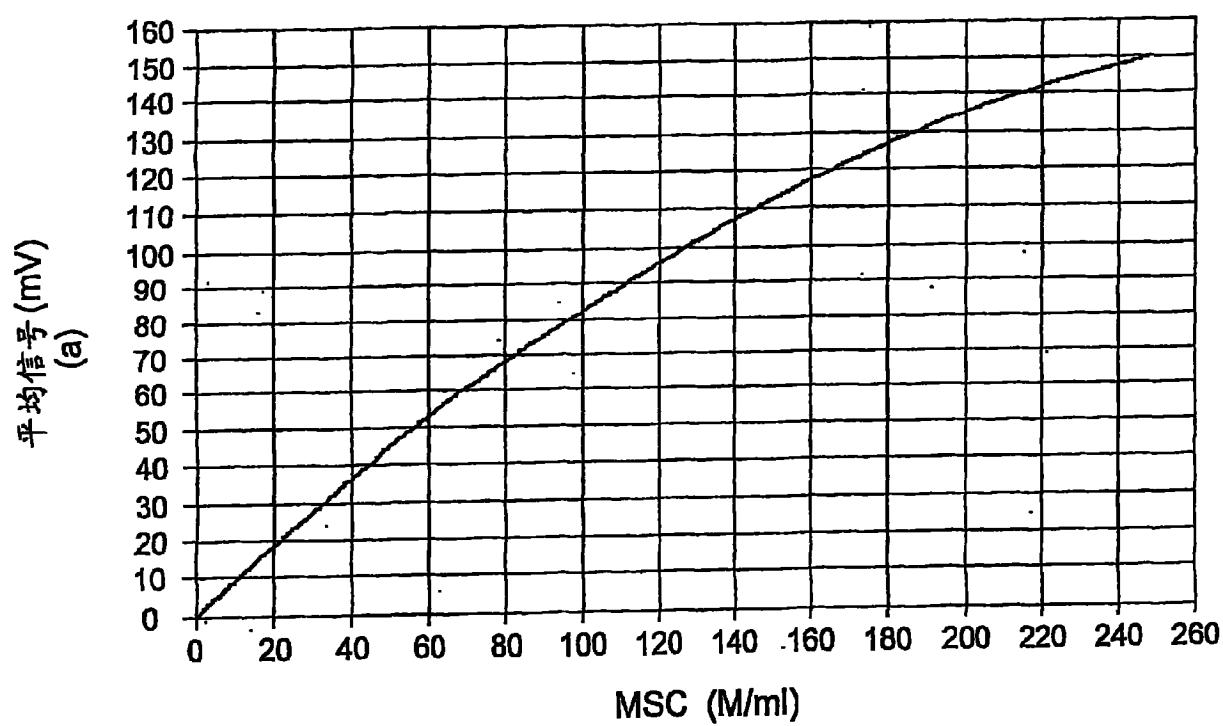


图 9

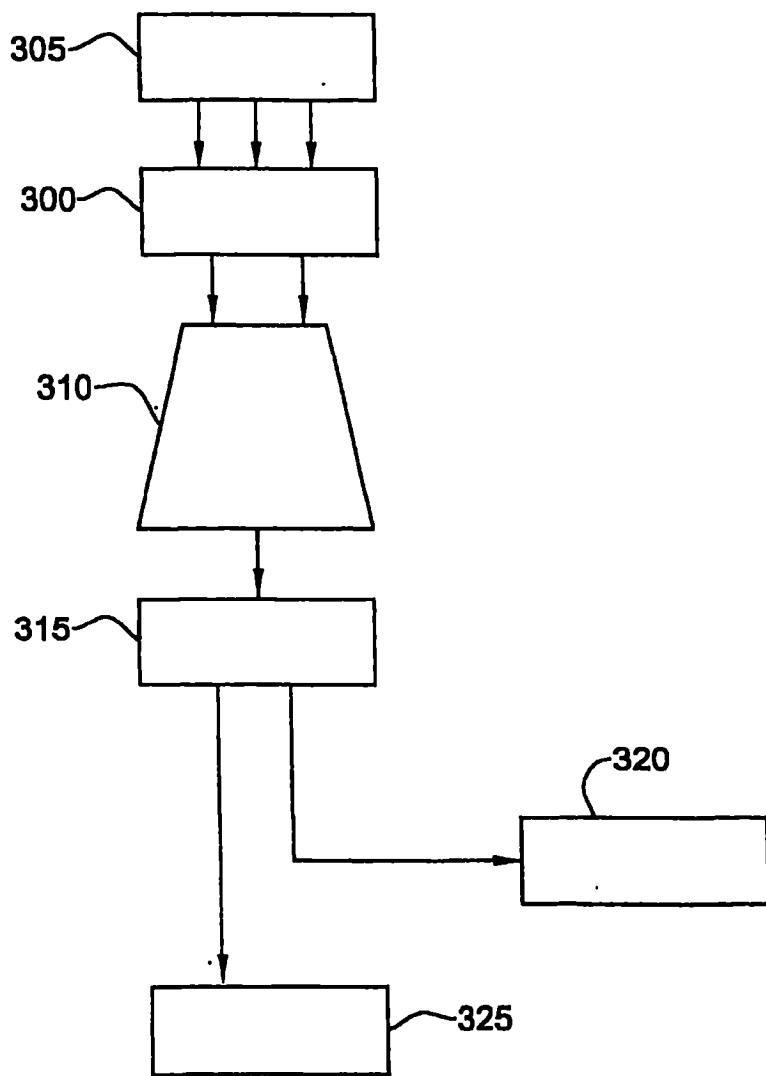


图 10