



NORGE

[NO]

STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN

[B] (11) **UTLEGNINGSSKRIFT** Nr. 149268

[C] (45) **PATENT MEDDELT**
21. MARS 1984

(51) Int. Cl.³ A 61 B 5/14, G 01 N 15/07

(21) Patentsøknad nr. 792695

(22) Inngitt 17.08.79

(24) Løpedag 17.08.79

(41) Alment tilgjengelig fra 19.02.80

(44) Søknaden utlagt, utlegningskrift utgitt 12.12.83

(30) Prioritet begjært 18.08.78, USA, nr. 934938

(54) Oppfinnelsens benevnelse Fremgangsmåte og apparat for å skille blodplater fra røde blodceller.

(71)(73) Søker/Patenthaver ORTHO DIAGNOSTICS, INC.,
US No. 202,
Raritan, NJ 08869,
USA.

(72) Oppfinner IRVING L. WEINER,
Sharon, MA,
RUSSELL J. GERSHMAN,
Middleboro, MA,
USA.

(74) Fullmektig Bryns Patentkontor A/S, Oslo.

(56) Anførte publikasjoner BRD (DE) utl.skrift nr. 1292877
USA (US) patent nr. 3675768, 3790760, 3941479

Foreliggende oppfinnelse angår en fremgangsmåte for å skille blodplater fra røde blodceller, hvor celler føres enkeltvis gjennom et lysfelt, optisk spredning frembrakt ved passering av cellene gjennom feltet måles ved bruk av mørkfeltsoptikk, et signal representativt for nevnte måling frembringes og deler av signalet utskilles, og en blodanalyseinnretning for gjennomføring av fremgangsmåten ifølge krav 1 som innbefatter anordning, som anvender mørkfeltsoptikk innbefattende fysisk blokkeringsinnretning for å blokkere i hovedsaken alt unntatt spredt belysning, og som reagerer på optiske spredningsmålinger for å frembringe et signal som fremstiller nevnte spredning, integrator, en elektronisk anordning innbefattende en forsterker for å kople dette signalet med integratoren.

En vanlig kjent type av blodanalyseutstyr anvender optiske systemer for å innstråle og analysere blodcellene enkeltvis. Typisk er at en liten blodprøve passerer gjennom en smal væskehvirvel, tilnærmet en celle bred, med en celle av gangen ved en svært høy hastighet. En lyskilde blir fokusert på hvirvelen, slik at når cellen passerer gjennom, samvirker de med lysstrålen, hvor de absorberer en del og spreder resten, avhengig av cellens størrelse, form, farve og lignende. I noen systemer er lyskilden kollimert og ikke-sammenhengende, mens derimot i andre blir lasere anvendt. Noen systemer anvender videre direkte lysspredningsmålinger, mens derimot andre anvender prinsippet til "mørkt feldt" mikroskop.

I ethvert tilfelle anvender disse systemene en rekke fotoelektriske anordninger som frembringer et signal basert på lyset, som blir spredt når cellene passerer gjennom lysstrålen. Amplituden til signalet utledet fra det spredte lyset, tenderer vanligvis til å koordinere godt med cellene under analysen. Dersom systemet benytter "mørkt feldt" prinsippet for eksempel, er signalpulser som korresponderer med typiske røde celler mange ganger (dvs. seks til ti ganger) større i amplitude enn de som korresponderer med typiske blodplater. For noen anvendelser finnes det derfor en passende basis for å skille mellom røde celler og blodplater ganske enkelt basert på amplituden til det spredte lyset.

For mange andre anvendelser er det imidlertid fordel-

149268

aktig og noen ganger vesentlig å skille røde celler fra blodplater ennå mer nøyaktig enn ved amplitudeutskillelse. Det kan således være nyttig å skille små røde celler fra store blodplater, som ville være relativt uutskillbare ved en enkel amplitude-utskillelse. Likeledes skulle luftbobler, fremmedlegemer og lignende bli gjenkjent som slike, og ikke bli identifisert som blodplater eller små røde celler.

Det er en hensikt med foreliggende oppfinnelse og frembringe fremgangsmåte og apparat for å øke muligheten til optiske blodanalyseinstrumenter å skille røde celler fra blodplater, og å skille begge slike typer av celler fra uregelmessigheter i blodet, som f.eks. luftbobler eller annet.

Ovenfor nevnte hensikt med foreliggende oppfinnelse tilveiebringes ved hjelp av fremgangsmåten og innretningen hvis kjennetegnende del er angitt i henholdsvis krav 1 og 5. Ytterligere trekk ved foreliggende oppfinnelse fremgår av henholdsvis kravene 2-4. og krav 6.

Med hensyn til signaler frembragt som reaksjon på målt lysspredning, f.eks. i systemer som anvender "mørkt felt" prinsippet, vil med andre ord to-dimensjonal signal analysen (dvs. amplitude og tid) gi adskillelsesmuligheter bedre enn en bare en-dimensjonal (amplitude) tilnærming. En øket deteksjons fremgangsmåte anvender ikke bare en amplitude utskillelse med hensyn til et stasjonært støynivå, men videre utnyttes en påfølgende signal-integrasjon og analyse av de integrerte signalene, for ytterligere å skille mellom røde celler, blodplater og sporindikasjoner slik som bobler eller annet.

Ved en vist utførelsesform blir cellene enkeltvist belyst, og et signal blir utledet basert på målt lys spredt fra cellene. Disse signalene blir passelig forsterket og koplet samtidig til en integrator og til en komparator, hvorved sistnevnte signalene blir sammenlignet med en støytterskel. Dersom de overskrider støytterskelen, som indikerer tilstedeværelsen av en celle som skal bli analysert, er integratoren åpen, og signalene selv blir integrert. Det integrerte signalet blir samtidig koplet til første og andre komparatorer, hvor hver av dem også blir anordnet med en sammenligningsreferanse som korresponderer med blodplater og hvor en større korresponderer med røde celler. Dersom det integrerte signalet er mindre enn

begge, blir det ansett for å være uekte, dersom det er større enn begge, blir det ansett for at en rød celle er detektert. I intervallet mellom tersklene blir det ansett at en blodplate er detektert.

Oppfinnelsen skal nå nærmere beskrives under henvisning til tegningene, hvor

figur 1 viser et skjematisk blokkdiagram av en foretrukket utførelse av prinsippet til foreliggende oppfinnelse;

figur 2 del A til E viser eksempler på bølgeformer forbundet med utførelsen på figur 1, hvor behandlingen av typiske signaler ifølge med prinsippet til foreliggende oppfinnelse er vist.

Skjønt det vil være innlysende at prinsippet til foreliggende oppfinnelse angår en variasjon av optiske blodanalyzesystemer, angår en foretrukket utførelsesform av søknaden systemer av typen analog med mørkt feldt mikroskopien. I slike system, blir hele blodet samlet, blandet med antikoaguleringsmiddel og fortynnet i et isotonisk væskemedium. Den fortynnete prøven blir pumpet gjennom et hydrodynamisk forkuseringsstrømningskammer, og en lyskilde blir fokusert på prøvestrømmen slik at lyset krysser aksene til strømmen med en tilnærmet rett vinkel. Dimensjonen til blendpunktet er gjort liten nok for å redusere celledelingssammenfallingen til nivåer som er lave nok til å tillate nøyaktige sammenfallende feilkorreksjoner.

Når hver celle passerer gjennom det optiske brennpunkt området, blir forskjellige deler av den innfallende strålingen overført, spredt og absorbert av cellen og den omgivende fortynningen. Den overførte strålingen blir så fysikalsk blokkert av en kunstig hindring som sammenligner stråletverrsnittprofilen etter at den har gått ut fra strømningskammeret i fravær av celler. Spredte stråler passerer rundt denne kunstige hindringen, og blir så samlet opp av en linse eller et speil. Absorberte stråler blir fortrinnsvis omformet til andre energiformer i cellen.

Samlingsoptikkene for det spredte lyset blir anordnet for å kaste et bile av den belyste prøvestrømmen på en åpning som er av samme størrelse som det belyste strømningsbildet, og oppsamlingsoptikkens fokuseringsdybde er i størrelses-

orden av prøvestrømmen. Bare spredt lys som frembringes ved den innbyrdes skjæring av innfallende fokuserte stråler, og den hydrodynamiske fokuserte prøvestrålen blir derfor tillatt til å passere gjennom åpningen. Denne strålingen blir avfølt av en fotodetektor, som frembringer et elektrisk signal som kan bli behandlet og analysert for å gi informasjoner med hensyn til cellene, som forårsaker lysspredningen.

Figur 1 viser i blokkdiagrammets form en utførelsesform av prinsippene til foreliggende oppfinnelse, hvor f.eks. signalet er blitt frembragt ved ovenfornevnte beskrevne fremgangsmåte, og blir tilført til en forsterker 101. Ved dette punktet inneholder signalet karakterer som korresponderer med røde cellesignaler, blodplatesignaler, bakgrunnsstøy og støy-signaler, som kan være frembragt av luftbobler, falske partikler e.l. Signalet fra forsterkeren 101 blir tilført til inngangen 105 til en integrator 104 og samtidig til en inngang til en komparator 102. Integratoren 104 er vanligvis sperret, og signalet tilført til inngangen 105 er ikke integrert. På dette tidspunktet forblir utgangen til integratoren fastholdt på 10 volt.

Den andre inngangen til komparatoren 102 blir forbundet med en referansekilde 103, som korresponderer med en støyterskel. Denne støyterskelen, som kan bli fritt variert i avhengighet med behovet til konstruktøren, kan bli vanlig innstilt til å eliminere en betydelig støysignalverdi i systemet, hvor funksjonen til komparatoren 102 er derfor i det vesentlige å identifisere signaler fra forsterkeren 101 som har tilstrekkelig amplitude for å kunne bli identifisert som blodplate eller røde celler. Alltid når signalet fra forsterkeren 101 overstiger støyterskelen fra kilden 103, avgir komparatoren 102 et åpningssignal på ledningen 106 til integratoren 104, som derved energiserer integratoren 104 til å frembringe et kjøreintegral til signalet tilført ved inngangen på ledningen 105. Alltid når signalene fra forsterkeren 101 tilsvarende faller under støyterskelen til kilden 103, sperrer komparatoren 102 integratoren 104 over ledningen 106, og utgangen til integratoren blir ennå en gang til fastholdt på 10 volt.

Utgangssignalet fra integratoren 104 blir samtidig

tilført til de respektive inngangene til komparatoren 107 og 109. Det skal bemerkes at komparatoren 109 er utstyrt ved dens andre inngang med en referansespenning fra kilden 110, mens komparatoren 107 blir tilført ved dens andre inngangsterminal en referansespenning fra kilden 108. Ifølge med prinsippene ved foreliggende oppfinnelse frembringer referanseskilden 110 et referansenivå som korresponderer med identifikasjonen til en blodplate, og referansenivået fra kilden 108 frembringer en referansespenning som korresponderer med identifikasjonen av en rød celle. Det er innlysende at de nøyaktige nivåene til kildene 108 og 110 vil være en funksjon av spenningsnivåene utnyttet gjennom hele systemet; den røde cellereferansen fra kilden 108 vil i et hvert tilfelle frembringe et nivå større enn det frembragt av blodplaterreferanseskilden 110.

Signaler fra integratoren 104 som er mindre enn blodplaterreferansen fra kilden 110 vil ikke åpne hverken komparatoren 107 eller 109. Signalene fra integratoren 104 som har en amplitude mellom nivåene innstilt av kildene 110 og 108, vil bare åpne blodplateindikasjonskomparatoren 109. Signaler større i amplitude enn referansespenningen frembragt av kilden 108 vil åpne begge komparatorer 107 og 109. Et åpnings utgangssignal fra bare den nederste komparatoren 109 vil derfor indikere deteksjonen av en blodplate, mens derimot åpningssignaler fra begge komparatorene 107 og 109 vil indikere deteksjonen av en rød celle. Utgangssignaler for komparatorene 107 og 109 er forbundet med en passende fremvisningsenhet som derved indikerer arten av den detekterte cellen eller cellene. Som kjent for fagmannen kan fremvisningsenheten 111 omfatte forskjellige signalbehandlingskretser for å frembringe histogrammer, spredningsdata eller lignende.

Driften av utførelsesformen av figur 1 kan kanskje bli bedre forstått ved å betrakte bølgeformene på figur 2. Spesielt bølgeformen A på figur 2 viser en eksempelvis bølgeform fra utgangen til forsterkeren 101. Man skal imidlertid bemerke at figur 2 del A viser en bølgeform som kan eller ikke kan være en aktuell form, og som imidlertid omfatter spesielle typer av signaler og pulser som kan forekomme. "Hvit" støy og lignende er ikke medtatt. Pulsen 200 fremstiller et falskt støysignal som kan være frembragt hvor som helst i den optiske eller elektroniske

delen av systemet. Pulsen 201 fremstiller "støy" spisstypen som kan bli frembragt fra f.eks. en luftboble, uekte forstyrrelser eller lignende som går gjennom systemet. Pulsen 202, relativt sett med hensyn til de andre pulsene, fremstiller et typisk blodplatesignal, men derimot pulsen 203 fremstiller en stor blodplate. Pulsen 204 fremstiller en liten rød celle, mens derimot pulsen 205, som for letthetens skyld er forkortet, fremstiller en typisk rød celle.

Bølgeformen B på figur 2 viser integrerte åpnings-signaler ved terminalen 106. Det skal bemerkes at hver puls på figur 2A bølgeformen har trigget integrasjonsåpningssignalet med untagelse av støypulsen 200, hvis amplitude var utilstrekkelig til å trigge komparatoren 102 i og med at den ikke overskred støyterskelen 103.

Bølgeformen C på figur 2 viser utgangssignalet fra integratoren 104, med henholdsvis blodplaterreferansen og røde celle referansen fra kildene 110 og 108. Det skal bemerkes at den integrerte verdien til pulsen 201 overskrider ingen av referansene, mens derimot den integrerte verdien til pulsene 202 og 203 har topper i området mellom blodplatene og røde celle-referansene. Som vist på bølgeformen D på figur 2, blir blodplatekomparatoren derfor følgelig energisert, men som vist med bølgeformen E på figur 2 blir utgangen til den røde cellekomparatoren 107 ikke energisert. Fremviseren 111 ville derfor bli energisert for å indikere detekteringen av blodplater.

Som vist i del C på figur 2, overskrider de integrerte verdiene til pulsene 204 og 205 begge referansetersklene, og de åpner begge blodplatekomparatoren 109 (bølgeformen E på figur 2), og den røde cellekomparatoren 107 (bølgeformen E på figur 2). Ved slike omstendigheter ville fremvisningsanordningen 111 dektekere røde celler for hver av pulsene 204 og 205.

På tross av at det vil være innlysende for fagmannen at de forskjellige nivåene, integrasjonshastighetene, og lignende er konstruksjonsparametre som kan bli variert fritt, skal det eksempelvis henvises til følgende bølgeformer:

Typisk blodplate (puls 202)	-----300 mv; 0,5-2 μ sek.
Typisk rød celle (puls 205)	-----3000 mv; 2-5 μ sek.
Typisk støy (puls 200)	----- 450 mv.
Stor blodplate (puls 203)	----- 500 mv.

Liten rød celle (puls 204)----- 400 mv.
Støyterskel (kilde 103)----- 50-100mv.
Blodplate referanse (kilde 110)--- 250 mv.
Rød cellereferanse (kilde 108)---- 2,5 v.

Av bølgeformene på figur 2 fremgår det at ifølge prinsippene til foreliggende oppfinnelse er celledetektering, utskilling og identifisering basert på to-dimensjonal signal-analyser, i motsetning til kun amplitude utskilling. Ved slike forhold blir falske signaler, slik som støypisser 201 eliminert fra betraktningen. I rene amplitudesystemer ville støypissen 201 bli tolket som en celle, og mest sannsynlig som en blodplatecelle.

Det skal bemerkes at foreliggende oppfinnelse gjør rede for skilling av små røde celler (puls 204 på figur 2A), som i et rent amplitudesystem ville bli blandet sammen med signaler som angår store blodplater (puls 203 på figur 2A). I et rent amplitudesystem ville terskelnivåene derfor måtte bli satt enten til å identifisere små røde celler som blodplater eller store blodplater som røde celler.

Det er klart at ovenfornevnte beskriver en foretrukket og vist utførelsesform og prinsipielle trekk ved foreliggende oppfinnelse, men at et uttall alternative utførelsesformer vil være mulig for fagmannen på området uten å adskille seg fra hensikten og tanken ved foreliggende oppfinnelse.

P a t e n t k r a v

1. Fremgangsmåte for å skille blodplater fra røde blodceller, hvor celler føres enkeltvis gjennom et lysfelt, optisk spredning frembrakt ved passeringen av cellene gjennom feltet måles ved bruk av mørkfeltsoptikk, et signal representativt for nevnte måling frembringes og deler av signalet utskilles, k a r a k t e r i s e r t v e d at nevnte signal sammenlignes med en referanseamplitude, som derved identifiserer mulige signaler som representerer celler, og at nevnte mulige signaler utskilles ytterligere basert på areal og tidskomponenter til nevnte mulige signaler, hvor større deler anses som røde celler, og utvalgte mindre deler anses som blodplater.
2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at ved det første utskillelsestrinnet sammenlignes signalamplituden med en forutinnstilt terskelverdi.
3. Fremgangsmåte ifølge krav 2, k a r a k t e r i s e r t v e d at ved den ytterligere utskillingen integreres signalet og sammenlignes med påfølgende terskelverdi, henholdsvis korresponderende med blodplater og røde celler.
4. Fremgangsmåte ifølge krav 3, k a r a k t e r i s e r t v e d at integreringen startes idet det ved sammenligningstrinnet detekteres signaler med minst den forutinnstilte terskelverdi.
5. Blodanalyseinnretning for gjennomføring av fremgangsmåten ifølge krav 1, innbefattende
 - a) anordning, som anvender mørkfeltsoptikk innbefattende fysisk blokkeringsinnretning for å blokkere i hovedsaken alt unntatt spredt belysning, og som reagerer på optiske spredningsmålinger for å frembringe signal (200, 201, 202, 203, 205) som fremstiller nevnte spredning,
 - b) en integrator (104),
 - c) elektronisk anordning innbefattende en forsterker (101) for å kople dette signalet med integratoren (104),
k a r a k t e r i s e r t v e d
 - d) en komparator (102) for å åpne integratoren (104) alltid når signalet er større enn en forutbestemt amplitudeterskelverdi,
 - e) elektronisk anordning (108, 110) for å frembringe et første og andre referanseterskelnivå, som representerer henholdsvis blodplater og røde celler, og

f) elektronisk innretning innbefattende operasjonsforsterkere (107, 108) for å sammenligne det integrerte signalet relativt i forhold til referansetersklene (108, 110), idet signaler større enn begge blir ansett å representere røde celler, signaler mindre enn begge anses å være falske og signaler mellomliggende begge anses å representere blodplater.

6. Innretning ifølge krav 5, k a r a k t e r i s e r t v e d at den elektriske anordningen for å åpne integratoren (104) innbefatter en elektronisk innretning (103) for å frembringe en referanseterskelverdi som representerer en spesiell type støy, elektronisk innretning for å sammenligne referanseterskelverdien med signalet, samt elektronisk innretning innbefattende komperatoren (102) for å åpne integratoren når signalet er større enn nevnte referanseterskelverdi.

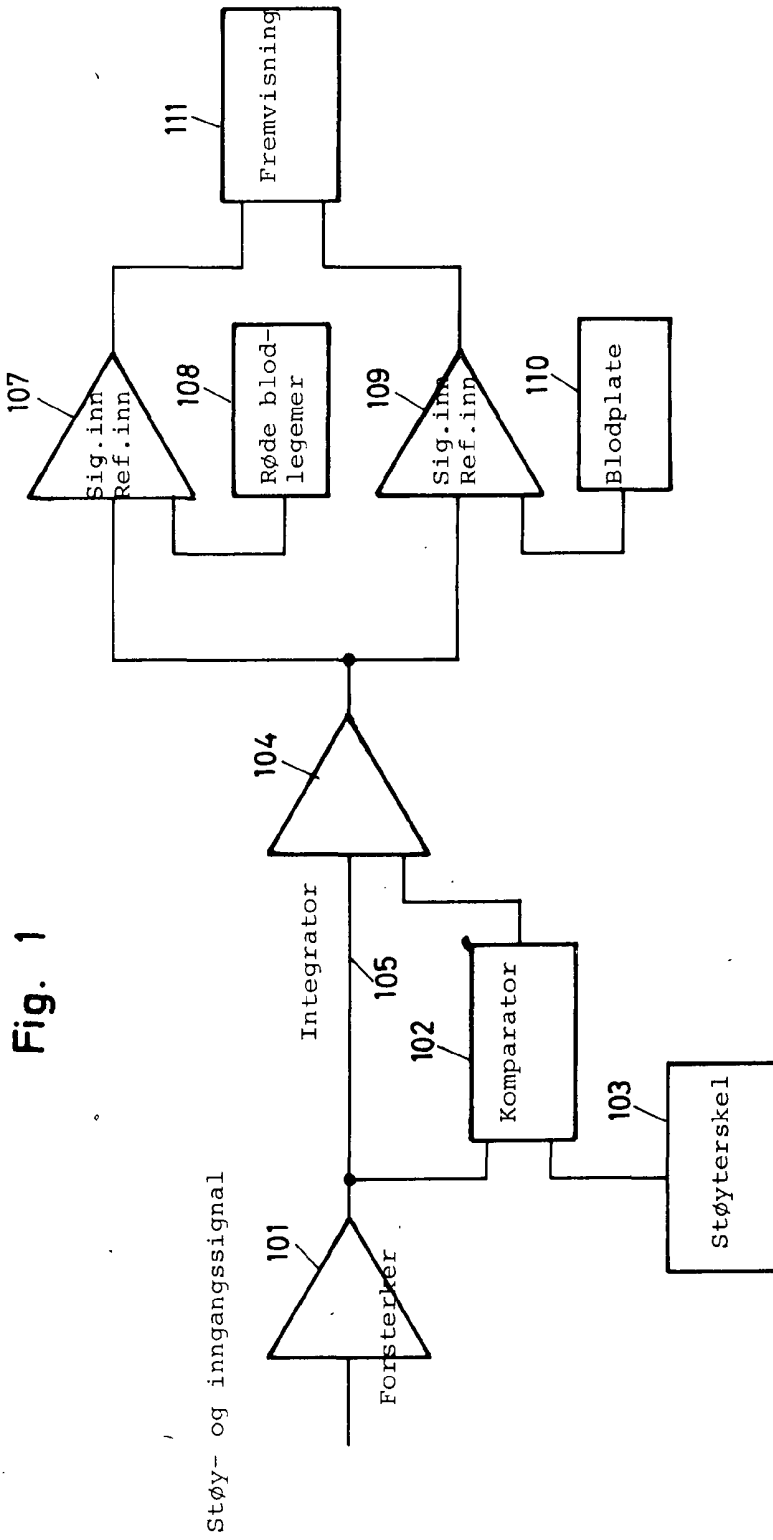
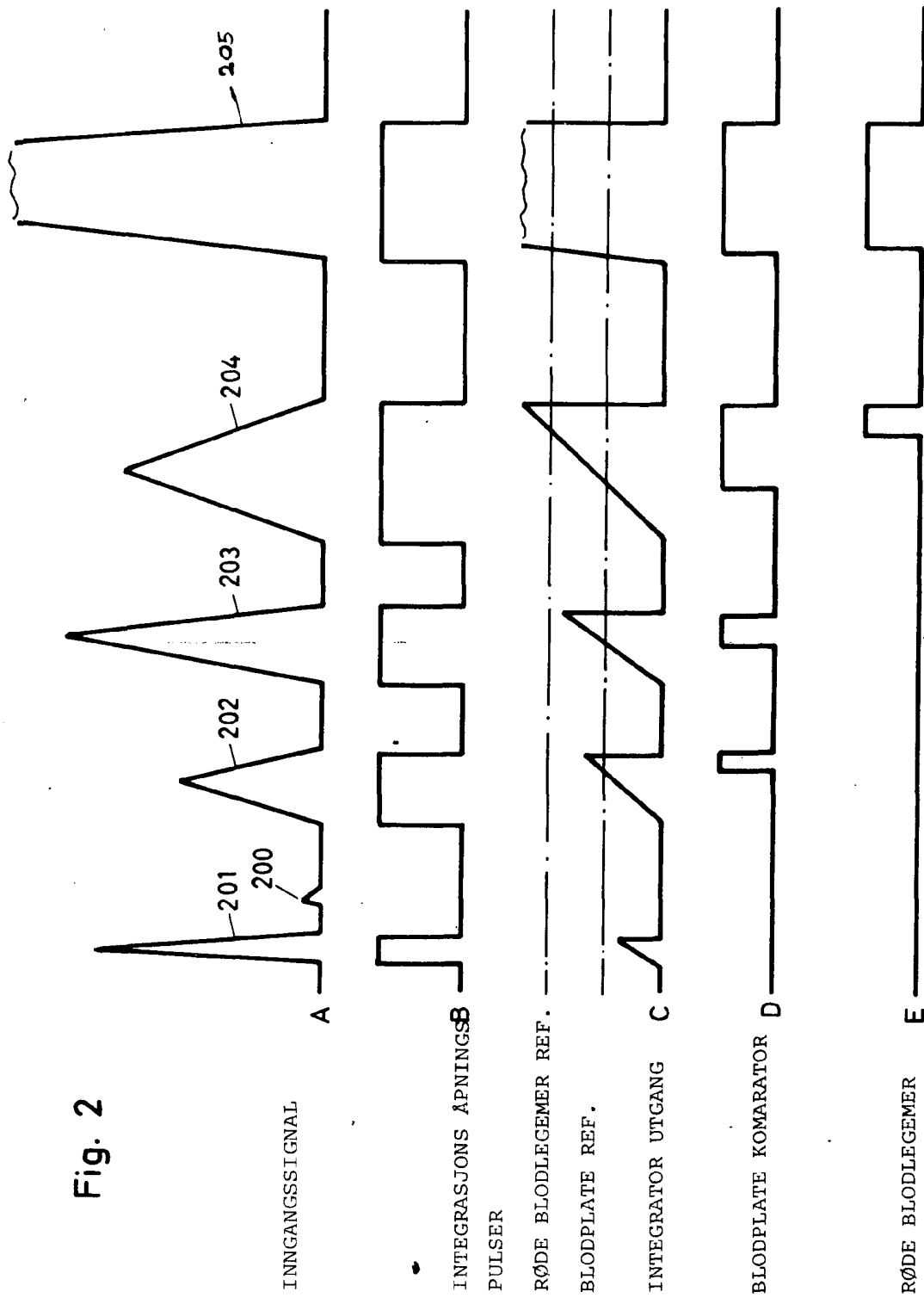


Fig. 2



149268