



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110187089 B

(45) 授权公告日 2021.10.29

(21) 申请号 201910463083.0

(22) 申请日 2013.07.18

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110187089 A

(43) 申请公布日 2019.08.30

(30) 优先权数据
61/673,037 2012.07.18 US

(62) 分案原申请数据
201380048272.2 2013.07.18

(73) 专利权人 赛拉诺斯知识产权有限责任公司
地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 M·戴耶尔 S·阿内卡尔
E·A·霍姆斯

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100

代理人 陈文青

(51) Int.Cl.
G01N 33/49 (2006.01)
G01N 15/05 (2006.01)

(56) 对比文件
EP 1063515 A2, 2000.12.27
EP 1063515 A2, 2000.12.27
EP 1063513 A2, 2000.12.27
CN 1791800 A, 2006.06.21
CN 101228426 A, 2008.07.23
CN 201773058 U, 2011.03.23
US 2005233460 A1, 2005.10.20

审查员 李莹哲

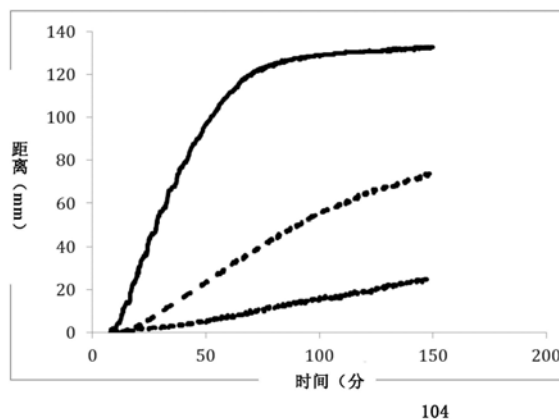
权利要求书1页 说明书22页 附图17页

(54) 发明名称

快速测量小容量样本中有形血液成分的沉降率

(57) 摘要

所描述的设备和方法用于测量有形血液成分的沉降速率。一些方法可能使用(1)用于分离红细胞和血浆的离心技术;以及(2)录像和(或)静态成像功能。二者可能被单独使用,或联合使用以加速红细胞沉淀并测量其速率。一个示范中,该方法可能极具优势地使用小容量血液样本快速测量沉降速率。自动图像分析可以被用来确定沉降速率和红细胞比容。自动化技术可能被用来对红细胞比容对未校正的沉降速率数据的影响进行补偿。



104

1. 一种测量有形血液成分的沉降率的方法,包括:

对一份血液样本使用一种加速血液成分分离的技术,用于在一段时间内将有形血液成分与血浆中分离;

根据至少以下步骤确定该有形血液成分的沉降率:一个时间相关的压积曲线以及一个红细胞比容的校正因子,其中所述血液样本中的至少一种有形血液成分的时间相关的压积曲线是在加速血液成分分离开始后被确定的,所述的压积曲线有一个接近线性的起始部分以及线性部分之后的非线性部分,

其中,在不使用来自压积曲线的非线性部分的数据的情况下确定红细胞比容的校正因子。

2. 如权利要求1所述的方法,其中:

该加速血液成分分离技术含有离心。

3. 如权利要求1所述的方法,进一步含有将根据离心技术所获得的沉降率与一种参照技术所获得的沉降率进行校准。

4. 如权利要求3所述的方法,其中的参照技术是Westergren技术。

5. 如权利要求1所述的方法,其中所述的血液样本为25 μ L或更少。

6. 如权利要求2所述的方法,其中在一个第一时间段内以一个第一种速度离心,然后在一个第二时间段内,以一个更快的第二种速度进行离心。

7. 如权利要求2所述的方法,其离心过程包括使用一台离心机允许在离心时对该血液样本进行视觉观察,以建立该血液样本中的一种或多种有形成分之间的交界面位置。

8. 如权利要求2所述的方法中,其离心过程包括使用一台带有一个窗口的离心机,可以对该血液样本进行视觉观察以建立一段时间内红细胞/血浆的交界面位置。

9. 如权利要求2所述的方法,其离心过程包括使用一台离心机、一个光源、和一个图像摄取设备,对该血液样本进行视觉观察以建立一段时间内红细胞/血浆的交界面位置。

10. 如权利要求2所述的方法,其中通过摄取一段时间中一个离心容器内一种或多种有形血液成分一个交界面位置的一个图像采集压积曲线数据,而血沉速率则根据上清液的月状面位置与该交界面的位置进行计算。

快速测量小容量样本中有形血液成分的沉降率

[0001] 本发明专利申请是国际申请号为PCT/US2013/051143,国际申请日为2013 年7月18日,进入中国国家阶段的申请号为201380048272.2,名称为“快速测量小容量样本中有形血液成分的沉降率”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 背景资料

[0003] 红细胞沉降速率(ESR),又称为沉降率或Biernacki反应,是红细胞沉淀的速度,通常在一个小时(1)的时间段内进行测量。这是一种常见的血液学检查,而且是炎症的一种非特异性测量。使用一种传统技术进行此项检查时,将抗凝血样放置在一个直立的试管内,就是我们所知的Westergren-Katz管,测量该红细胞的沉淀速度并以“mm/小时”单位进行报告。特别是该Westergren 方法需要采集2ml静脉血放入一个含有0.5ml枸橼酸钠的试管内。该样本储存时间室温下不应该超过2小时,或者4℃时不超过6个小时。抽吸该血样至Westergren-Katz管200mm标志处。该试管室温下以严格的垂直位放置在一个支架上一小时,测量在这段时间内产生的从月状表面最低点到无红细胞血浆与含红细胞样本交界面之间的距离。红细胞交界面移动的距离,按1小时内多少毫米表示时即为ESR。

[0004] ESR由促沉淀因素主要是纤维蛋白原(但也可能是血浆C反应蛋白(CRP)、免疫球蛋白A和G、 α 1-酸性糖蛋白和 α -1抗胰蛋白酶水平),和抗沉淀因素主要是红细胞上的阴性电荷(电动电势)之间的平衡所决定。在一个炎症的示范中,血浆中高浓度的纤维蛋白原水平造成红细胞之间相互粘合在一起。该红细胞粘附堆积在一起形成所谓的“缙线状”,其沉淀速度较单个细胞快。缙线状形成也可以发生在一些淋巴增殖异常的情况,此时会发现一种或多种高浓度的免疫球蛋白。尽管如此,缙线状形成在马、猫或猪等动物中可以是一种正常的生理状况。

[0005] 任何原因和病灶引起的炎症都会使ESR升高。ESR在怀孕和类风湿性关节炎时升高,而在红血球增多症、镰状红细胞性贫血、遗传性球形红细胞血症和先天性心脏病中是降低的。女性的ESR基础值稍高。

[0006] 测量ESR的标准确定方法是Westergren检测。这种检测需要使用大容量的血液样本,通常是几毫升。由于许多样本的ESR可以低至10mm/小时,所以通常需要一个小时的孵育时间。使ESR增加的炎性因子包括纤维蛋白原、C-反应蛋白(CRP)和一些免疫球蛋白,这些因子可以使ESR增加至100mm/小时。

[0007] 实施血沉检测的传统方法有各种局限性。例如所讨论的Westergren血沉检测需要抽取一个相当大的血容量。而且传统的血沉检测技术需要相当长的一段时间,并且在获得检测结果时会出现时间上的滞后,可能会导致诊断和治疗的延迟,对患者的健康状况造成有害的影响。

[0008] 引置条款

[0009] 本说明书中提及的所有出版物、专利和专利应用都是以同等程度的引用方式并入本文中,就像每一个单独的出版物、专利或专利应用被特定地和单独地指示作为引用方式并入本文一样。

[0010] 摘要

[0011] 在一个非常短的时间内,例如但不限于大约几秒钟到几分钟之内完成血沉检测可能是非常需要的。在所用的检测设置方面,仅使用很小容量的血液进行血沉测量也可能是非常需要的,这种小容量血液可以通过不同取血位置、非静脉血抽取或较小的静脉血抽取来获得。而通过一种自动方式(不需人工观察)进行血沉测量以及对测量结果生成一份客观的报告则可能是更进一步的需求。除此以外,对优化病人处理有帮助的进一步信息可能通过实施以及(或者)最大速度地复合测量与血沉相平行的其他分析参数来获得。

[0012] 此处所示的一个实例中,该血沉测量可能使用(1)用于分离红细胞和血浆的离心技术;以及(2)录像和(或)静态成像功能。二者可能被单独使用,或联合使用以加速红细胞沉淀和其速率的测量。当然,除离心以外的其他加速沉淀技术可能被用来替代离心或与离心联合使用来分离血液成分。

[0013] 在一个非限制性示范中,该方法可能有助于(1)使用诸如大约20-25微升(“ μL ”或“ μL ”)或更少的小容量血液样本快速测量ESR(数秒钟之内);(2)使用自动图像分析技术确定红细胞沉降率和红细胞比容;以及(或者)(3)使用自动技术对红细胞比容对未校正ESR产生的影响进行补偿,以提供一个与传统Westergren法相符合的数值。当然,并不除外使用大容量血液样本的其他实例。由于可以对红细胞比容进行校正,此处所示的一些血沉测量技术实例比传统 Westergren技术更健全,而且可以用于纤维蛋白原和(或)红细胞比容水平位于 Westergren检测所必需的狭窄范围以外的样本。

[0014] 使用此处的一个实例,使用一个小容量血液样本可以在数秒钟之内获得校正后的ESR,对红细胞比容对ESR的影响进行补偿。在初始离心阶段的数秒钟之内获得的该结果可以以为该患者加速送达一个诊断。

[0015] 而且,在多种检测过程中,一个普遍使用的预处理步骤已经涉及在测量细胞标记物和分析血浆/血清成分表达之前将红细胞和白细胞从血浆或血清中分离出来。因此,很方便在分析准备阶段已经开始实施这种预处理操作的同时加入一个 ESR检测。该ESR的测量并不会占额外的处理时间或占用通过非静脉取血所获得的有限血液量方面在产生明显的负担。对非限制性示范,应该理解的是,检测操作,包括预处理步骤,可能在一个单一的仪器系统内进行。可选择地,一些实例可能在一个装置内执行一个或几个步骤,而在另一个装置内执行另外一个或多个步骤。

[0016] 还应该理解的是此处所描述的实例可能适宜备有以下所描述一项或多项配置。在一个非限制性示范中,一个典型的操作规程可能是在一个离心容器内盛装 20 μL 血液,并在一个甩平式离心转子内以4000rpm (580 $\times g$)速度离心10s。在这个期间内,含有红细胞的样本部分与无红细胞部分之间的交界面通过摄像进行观察。尽管不除外其他时间段,但是在这个短期时间内获得该ESR的测量可以是非常有利的。可选择地,一些实例可能会校正受红细胞比容影响的“未加工”的ESR值。红细胞比容可能同时在用于原始ESR测量的操作中进行测量。一个非限制性示范中,在一个用来测量ESR的相对低转速的离心后,该转速会被增加以沉积红细胞。红细胞比容通过对压积的红细胞和上清血浆容量的图像分析进行确定。可选择地,其他测量红细胞比容的技术也可能被用于校正“原始”ESR数值。

[0017] 此处至少一部分实例可能不使用对沉降曲线非线性(指数)部分进行一种线性变形斜率的计算而对ESR进行校正。

[0018] 此处至少一部分实例可能不使用针对发生在沉降曲线非线性部分的多个红细胞/

血浆交界面位置所进行的一种数学功能计算而对ESR进行校正。

[0019] 此处至少一部分实例可能不用选择位于所述沉降曲线非线性部分的一个阶段来对ESR进行校正。

[0020] 此处至少一部分实例可能仅仅根据对沉降曲线线性部分的测量而对ESR进行校正。

[0021] 此处至少一部分实例可能根据对沉降曲线实质上的线性组成部分的测量而对ESR进行校正。至于“实质上的组成部分”，我们的意思是至少90%或以上的测量是基于该线性部分的。

[0022] 此处至少一部分实例可能不使用针对代表该血液样本中红细胞之间的排斥力重要性的沉降曲线非线性部分所进行的一种数学功能计算而对ESR进行校正。

[0023] 此处至少一部分实例可能不用取消形成沉降曲线一个线性部分的样本离心这一时间段而ESR进行校正。

[0024] 此处至少一部分实例可能针对红细胞比容对ESR进行校正，而对该红细胞比容的测量不是源于离心技术，例如，用洗涤剂裂解红细胞，然后与铁氰化物和氰化物混合，对所形成的氰变血红蛋白的吸收情况进行测量。

[0025] 此处至少一部分实例可能具备经过调整的血液样本，以便在一个已知的红细胞比容水平下进行血沉的测量。

[0026] 在此处所述的至少一部分实例中，所提供的一个方法含有：对一份血液样本使用一种加速血液成分分离的技术，用于在一段时间内将有形血液成分从血浆中分离；根据至少以下步骤确定该有形血液成分的沉降率：一个时间相关的压积曲线以及一个红细胞比容的校正因子，其中所述血液样本中的至少一种有形血液成分的时间相关的压积曲线是在加速血液成分分离开始后被确定的，所述的压积曲线有一个接近线性的起始部分以及线性部分之后的非线性部分。

[0027] 在此处所述的至少一部分实例中，所提供的一个方法含有：在一个容器内对一份血液样本离心一段时间；离心开始后，为所述血液样本中的至少一种有形血液成分绘制一个时间相关的压积曲线，所述的压积曲线有一个接近线性的起始部分；通过使用一个红细胞比容校正因子，在所述压积曲线的近似线性部分，对红细胞比容对该有形血液成分沉降率的影响进行校正。

[0028] 应该理解本发明的实施方案适合以下所描述一项或多项配置。在一个非限制性示范中，该方法含有将通过离心技术所获得的沉降率与一种参照技术所获得的沉降率进行校准。可选择地，该参照技术是Westergren技术。可选择地，该样本大约有25uL或更少。可选择地，在一个第一时间段内以一个第一种速度离心，然后在一个第二时间段内，以一个更快的第二种速度进行离心。可选择地，离心过程包括使用一台离心机允许在离心时对该血液样本进行视觉观察，以建立该血液样本中的一种或多种有形成分之间的交界面位置。可选择地，离心过程包括使用一台带有一个窗口的离心机，可以对该血液样本进行视觉观察以建立一段时间内红细胞/血浆的交界面位置。可选择地，离心过程包括使用一台离心机、一个光源、和一个图像摄取设备，对该血液样本进行视觉观察以建立一段时间内红细胞/血浆的交界面位置。可选择地，通过摄取一段时间中一个离心容器内一种或多种有形血液成分交界面位置的多幅图像采集压积曲线数据。可选择地，该多幅图像中的像素位置被用来准确

地确定交界面的位置。可选择地,通过一段时间中对一个离心容器内一种或多种有形血液成分一个交界面位置的拍摄一个图像来采集压积曲线数据,而血沉速率则根据上清液的月状面位置与该交界面的位置进行计算。可选择地,在样本进行离心时采集压积曲线数据。可选择地,离心被用于获取红细胞比容的测量值以及校正红细胞比容对血沉速率测量的影响。可选择地,校正红细胞比容包括对该所述曲线中出现的多个有形血液成分交界面位置进行一个数学功能计算,所述功能将被用来纠正红细胞比容所造成的血沉速率变异。可选择地,该样本中红细胞比容的测量源自于一个与离心不同的技术;可选择地,图像变形用来将一个弯曲的交界面转变为一个水平的交界面。可选择地,对图像变形进行选择,对有形血液成分交界面位置的录像进行图像变形,然后选择一个同时覆盖空气/血浆交界面和红细胞交界面全部区域的感兴趣区域。可选择地,该录像中的每一个时间点、穿过一个含有该样本的样本容器感兴趣区域内每一行像素强度值被平均后都会产生一个沿该样本容器呈放射状向下并代表强度的单一竖列。可选择地,一个血沉概况的线性区域可以被用来提取出一个血沉速率。可选择地,该有形血液成分是白细胞。可选择地,该有形血液成分是血小板。

[0029] 应该理解本发明的实施方案适合以下所描述一项或多项配置。在一个非限制性示范中,该方法包含对所述图像进行变形,将曲线交界面的图像变形为纠正后的直线交界面图像;离心开始以后针对所述血液样本中至少一种有形血液成分,根据所述纠正后图像中交界面的位置绘制出一个时间相关的压积曲线。可选择地,该方法含有:使用一个程序化的操作器控制系统将至少一份血液样本的一部分从一个血液样本位置传送到一个离心容器内;使用程序化操作器控制下的一个样本处理系统将所述的容器从一个第一可访问位置传送到含有一个第二可访问位置的离心机内;在该容器内对该血液样本离心一段时间;离心后收集至少一幅有形血液成分和血浆交界面位置的图像;离心开始以后针对所述血液样本中至少一种有形血液成分,根据该图像中交界面的位置绘制出一个时间相关的压积曲线。可选择地,该容器被从该离心机内移出来获得所述图像。可选择地,在获得所述图像后,该容器被移回到该离心机内。可选择地,该方法含有不同的离心速度,直到压积过程完成这一段时间内,对至少一种有形血液成分绘制一个线性压积曲线;监测该时间段内至少一个部分的离心速度模式;然后根据该离心速度模式决定血液成分的沉降速率。可选择地,该方法含有在一个起始时间点收集至少一幅第一个有形血液成分和血浆交界面位置的单一图像;当沉降速率还是一条直线时,在一个第二时间点收集至少一幅第二个有形血液成分和血浆交界面位置的单一图像;根据计算出的线性沉降率和一个红细胞比容校正因子,对所述血液样本中至少一种有形血液成分的沉降率进行计算。

[0030] 还是在此处所述的另一个实例中,所提供的一种方法含有在一个容器内对一份血液样本离心一段时间;使用在一个单一模式条件下该容器的图像建立血沉速率;以及通过使用一个红细胞比容校正因子校正红细胞比容对该有形血液成分沉降率的影响。正如此处所述,成像的使用可以包括使用该容器的一个单一图像确定血沉速率。对于非限制性示范,使用该容器的一个单一图像时,该容器内上清液的一个月状面显示了一个初始水平,而该上清液与有形血液成分的一个交界面位置显示的是当前的位置,从这两个位置计算血沉速率。可选择地,一些实例可能使用多幅图片计算血沉速率,但是所有这些图像都是该容器处于一个单一状态条件下时所获得的。可选择地,该容器的所有图像是在一个单一时间点时所获得的。可选择地,该容器的所有图像是该有形成分界面位置在该容器内不再改变时所

获得的。

[0031] 所提供的这个摘要以简化形式介绍了一个概念的选择,这些概念将在以后的详细描述章节做进一步介绍。本摘要意图不是对所权利要求的标的的关键结构或必要配置进行确定,也不是用来对所权利要求的标的进行限制。

[0032] 图形的简要描述

[0033] 图1显示的是在Westergen-Katz试管内,高、中和低ESR血液样本时红细胞沉降的一个图形。

[0034] 图2A-2B是位于透明离心容器内的血液样本图像。

[0035] 图3显示的是一个带有一个探测系统实例的一个离心机示意图。

[0036] 图4-5显示的是使用一个探测系统实例拍摄的图像。

[0037] 图6A-7C显示的是进行离心的一份血液样本内,一系列校正和未校正的交界面图像。

[0038] 图8A-8B显示的是一个检测样本的不同波动曲线记录图。

[0039] 图9显示的是一个检测样本的一个血沉图形。

[0040] 图10A-10B显示的是带有不同拟合功能拟合至图9所绘数据的血沉图形。

[0041] 图11-14显示的是添加不同水平纤维蛋白原的样本其不同样本沉降特性。

[0042] 图15显示的是含有不同红细胞比容水平的不同血液样本的沉降速率。

[0043] 图16是图15中所示的拥有不同红细胞比容的该样本经过一段时间后交界面位置的一个图形。

[0044] 图17是一个拥有10个不同红细胞比容的一份样本经过10秒钟后交界面位置的图形。

[0045] 图18A显示的是此处一个实例没有经过红细胞比容校正的一个ESR图形。

[0046] 图18B显示的是此处一个实例经过红细胞比容校正后的一个ESR图形。

[0047] 图18C显示的是根据此处的一个实例,基于血红蛋白浓度的红细胞比容测量值图形。

[0048] 图19和20使用非-LOG和LOG数轴对几个样本的沉降速率进行了说明(如图15中的特定显示)。

[0049] 图21显示了一个用以说明一个白细胞界面的波动曲线记录图。

[0050] 图22显示了一个拥有样本装卸、预处理及分析成分的整合系统实例的示意图。

[0051] 详细描述

[0052] 应该理解的是无论前面的一般描述还是后面的具体描述都仅仅是示范和解释,对所权利要求的标的没有限制性。应该注意的是,除非上下文明确指明,用在规范和附加权利要求中的单数形式“一个(a)”、“一个(an)”和“这个、该(the)”包括复数概念。因此,例如,参照“一种材料”的概念可能包括几种材料的混合;“一种成分”的概念可能包括多种成分,以此类推。此处引用的参考文献被完全参考,除非其覆盖范围与规范中事先明确指出部分相抵触。

[0053] 在接下来的规范和权利要求中将会涉及到一些术语,这些术语被定义为以下含义:

[0054] “可选择的”或“可选择地”意味着后面描述的情形可能发生也可能不发生,所以描

述包括情形发生的情况和不发生的情况。例如,一种设备“可选择地”含有某种配置作为样本收集孔,这意味着该样本收集孔可能存在或可能不存在,因此这里的描述既包括具有样本收集孔的设备结构,也包括不具有样本收集孔的设备结构。

[0055] 现在参照图1,显示了一套血液标本的红细胞/血浆交界面的动态结果。图1 显示了一个范围内的样本,在Westergren-Katz试管内红细胞沉降的动态结果,连续线显示高水平ESR、虚线显示的是中等水平ESR、而点线显示的是低水平ESR。尽管如图1中所示,Westergren ESR以一个单一数值(mm/小时)进行报告,但是在一个小时之内,沉降速率还是存在剧烈变化的,开始缓慢,然后逐渐增加,再逐渐降低。该标准Westergren方法以一个小时内一个单一位置报告ESR,实际是给出了在一个小时之内的平均沉降速率。一个更新的,被称为Sigma ESR的方法,计算在20、30、40、50和60分钟时所移动距离的总和,已经显示出与临床相关变量更好的相关性。

[0056] 血沉曲线的测量

[0057] 许多技术可能被用来绘制一种或多种有形血液成分的沉降速率曲线。虽然目前的专利申请大部分描述的是测量红细胞沉降率,此处的系统和方法也可以适用于其他有形血液成分沉降速率的测量,例如但不限于白细胞、血小板、或其他类似成分。

[0058] 在一个非限制性示范中,此处所描述的一项技术包括沉淀过程中在几个时间点上拍摄图像,通过将该样本容器放置在一个离心机内、旋转几秒钟、停止旋转、移除该容器、将其放置在一个浏览器内、拍摄一张照片、并重复以上步骤来获取一段时间内的多幅照片。从一个设备简单化观点来看,这对简化硬件安装获得这种图像是有帮助的。测量血沉的功能在此文其他部分加以讨论,而该沉降将曲线初始(线性)部分的斜率被用来计算ESR。

[0059] 当然应该理解的是,一些实例可能在该容器处于离心机原位的情况下获得这种交界面位置的图像和(或)数据,而不必中止离心,移出该样本容器用于成像。该原位成像可能在离心转子运动或静止状态下进行。应该理解的是,虽然可能是拍摄分开的图像,但是录像、连续成像、以及每秒多帧成像也可能被使用。

[0060] 现在参照图2A和2B,显示的是离心前和一个离心早期阶段红细胞界面的示范。在一个非限制性示范中,该离心容器可能全部或部分由透明材料制成,例如透明塑料(注射塑形聚乙烯)。一些实例中,该透明部分可能是窗口、无色开口、或该容器上的无色条带,以允许对该容器内样本的所需血液成分界面进行成像。在目前的实例中,该离心容器半径中位点是35mm(从转轴出发的半径距离)。在一个实例中,外径是35mm,内径(例如到液体上表面)是28mm,因此中位点是31.5mm。该容器内的样本高度为7mm,该容器的内径为2.3mm。对将在其他地方讨论的,用于红细胞比容校正因子的经验性参数进行再校准后,改变该样本容器的几何结构或被检测样本的容量是可以接受的。

[0061] 其他适合的离心设计和结构包括该离心容器的尺寸、该离心转子的构造、以及离心机大小在共同等待的美国专利申请序列号13/355,458和13/244,947中有所显示,二者都因各种目的以引用的方式完全纳入本文中。当前系统中包括适合的成像设备和液体处理系统在内的其他成分也在纳入本申请的引用文献中被描述。例如,那些在申请中所描述的数码相机的功能可能被用来测量非常小的距离以及ESR时距离变化的速率。图像分析可以被用来测量红细胞和血浆之间界面的运动。

[0062] 对于非限制性示范,在一些实例中,离心开始后在早期阶段(数秒钟)仅仅进行两

次测量即足以高精度地确定血沉速率。在一个实例中,一些情况是在达到一个初始最小离心速度后拍摄第一幅图像,然后可能在大约10秒钟之后拍摄第二幅图像。当然不排除在其他时间段获取该图像,只要它们位于该沉降曲线的线性部分。

[0063] 观察图2A和2B,可以看到在一个固定的(垂直)试管内的红细胞交界面位置(短时间离心)。在目前的非限制性示范中,图2A和2B中甩开式离心容器呈停止状态,而且是位于垂直位。当然,由于表面张力可以保持界面在一个位置,所以静态成像不需要试管呈垂直状态(只要拍摄迅速完成即可)。通常情况下,这个过程在一秒钟内完成,否则其他两个RBC之间的交界面将开始漂移。

[0064] 如图2A和2B中所见,在被红细胞和血浆占据的样本部分之间有一个明显可见的边界清晰的过度区。在这些图像中该水平红细胞交界面水平清晰可见。图2B 中该交界面相对于图2A移动的距离与这些图像中一个大数目的像素值(50/mm) 相对应。因此如图所见,该交界面移动的像素数值允许对交界面位置进行准确的追踪。例如其他的图像分辨率,例如但不限于50像素/mm到100像素/mm(或更高) 也可以被用来提供比每mm或其他单位长度的像素数值更大的粒度。其他的图像可能使用更少的每单位长度像素数值,只要该分辨率足以准确确定交界面位置的变化即可。一些实例可能将该图像放大,以至于有更多的像素值与该交界面相关联,也就是更多的像素值与该交界面的位置变化相关联。一些实例可能使用带有更高每单位面积像素值的探测器。这样通过测量更多的像素值以及有能力探测到交界面位置更细微的变化来提高该测量的敏感性。

[0065] 在一个实例中,一种在该离心机壳内使用一个透明窗口的方法被提供,以便在低速离心时对沉降进行一个视频录像。而且,该离心区使该月状面变得更平直(与离心力矢量之间呈锐角),对测量小沉淀距离更容易。这一点在该离心转子旋转时进行图像拍摄可能确实发生。通过在中等转速下(通常为4000rpm,从2000到 6000rpm也可能适合)对一份小容量(20-25uL)血液样本进行离心,该实例中,在大约3分钟之内红细胞几乎完全得以沉降。在实际操作中,一种方法可能在相对低速(4000rpm)时用几秒时间进行血沉测量,然后将转速增加至10000rpm维持大约3分钟,以压积红细胞并确定红细胞比容。这种多阶段不同离心速度的旋转允许对血沉进行成像,然后快速离心沉淀以达到血液成分压积并从血浆中分离的目的。

[0066] 现在参照图3,一个离心机100的实例,再次对其监测交界面位置的能力进行描述。为了检测血沉,一个图像拍摄设备110可能内置于该离心机100附近,带有一个光源12,例如但不限于LED,其所在位置用于从对侧提供照明。可选择地,不排除一个其他颜色的光源。该图像拍摄设备110可能是一台静止的数码相机、一台高速照相机、一台摄像机、或其他足以探测该交界面位置的设备。当然,也不除外其他设备,例如但不除外非图像拍摄设备探测器。对于非限制性示范,此处的一台非视觉成像设备可能是一台光电二极管,它可以作为一台探测器使用,当一种血液成分交界面经过该探测器时对其进行探测,或者通过大量的透射光线来探测被 RBCs或其他血液成分阻断的流量比例。非光学成像探测器可以被使用,尽管它们不能真正地传送一个光学图像,但还是可以探测到该样本中交界面的位置和(或)位置变化。

[0067] 文中其他部分对照相机或其他探测设备的任何描述都可以用于此处。一个示范中,该图像拍摄设备110可能是一台数码相机。图像拍摄设备也可能包括电荷耦合设备

(CCDs)、光电倍增器和光电管、光电探测器、或扫描显微镜一类的其他探测设备,向光或逆光均可。某些情况下,照相机可能使用CCDs、CMOS、可能是无镜头相机(如Frankencamera)、开源相机、或其他摄影技术中已知的或新发展的光学探测技术。照相机可能含有一种或多种结构,使其可能在使用过程中聚焦,或者可能拍摄图像后再聚焦。一些实例中,成像设备可能备有二维成像、三维成像、和(或)四维成像(随时间变化而变化)技术。成像设备可能拍摄静态图像。该静态图像可能被在一个或多个时间点进行拍摄。该成像设备也可能拍摄视频和(或)动态图像。该视频图像可能在一个或多个时间段内被连续拍摄。成像设备和(或)探测单元的任何其他描述也可能被应用,首先考虑的是,只要它们能够探测到交接面位置的变化。

[0068] 在一个非限制性示范中,一个光源112可能是一个发光二极管(LED)(例如,砷化镓(GaAs)LED、砷化铝镓(AlGaAs)LED、磷砷化镓(GaAsP)LED、磷化铝镓铟(AlGaInP)LED、磷化镓(III)(GaP)LED、氮化镓(InGaN)/氮化镓(III)(GaN)LED、或磷化铝镓(AlGaP)LED)。在另一个示范中,一个光源可以是一个激光。例如一个垂直空腔表面激光发射器(VCSEL)或其他适合的光线发射器,例如但不限于一个磷化铟镓铝(InGaAlP)激光器、一个磷砷化镓/磷化镓(GaAsP/GaP)激光器、或者一个镓铝砷/镓砷(GaAlAs/GaAs)激光器。光源的其他示范可能包括但不限于电子激发光源(例如阴极射线致发光、电子激发照明(ESL灯泡)、电子射线管(CRT监视器)、真空管)、白炽灯光源(例如碳按钮表示灯,传统的白炽灯灯泡、卤钨灯、格洛巴灯,能斯特灯)、电致发光(EL)光源(例如,发光二极管-有机发光二极管、聚合物发光二极管、固态照明、LED灯、电致发光单、电致发光线)、气体放电光源(例如,荧光灯、感应照明、空心阴极灯、氖和氩灯、离子灯、氙气闪光灯)、或者高强度气体放电光源(例如,碳弧灯、陶瓷放电金属卤化物灯、汞弧碘灯、汞汽灯、金属卤化物灯、钠蒸汽灯、氙弧灯)。另外,一个光源可能是一个生物光源、化学光源、磷光或荧光光源。

[0069] 如图3所见,含有一份血液样本的一个离心容器114可能被放置在该图像拍摄设备110和该光源112之间,以观察该容器内有形血液成分界面的位置。该离心转子116可能被设计为具有一个开口、一个窗口、或其他区域以便离心过程中允许看到该离心容器114。离心旋转过程中测量血沉的方法可能被使用,但是应该理解的是,也不除外在离心旋转之前或之后离心机处于静止状态时进行血沉的测量。

[0070] 在图3的当前实例中,该离心转子116的旋转轴可能是垂直的。应该理解的是,也不除外其他转动轴角度,例如水平位或成角转动轴。一些实例可能在一个时间段内拥有一个第一方位,而在一个第二或其他时间段内有一个不同方位。

[0071] 在一个非限制性示范中,该离心容器的顶部和(或)底部作为参照点被成像,在后面可被用来对该液体和交界面水平进行校准。图4显示了一个该离心机内一个离心容器114的相机视图。来自该离心容器114背后的光源照明允许对血液样本S 和该血/气交界面120进行观察。转动方向通过箭头122显示。

[0072] 现在参照图5,将对该离心容器114内血液样本的一幅放大视图进行描述。图5是一幅离心过程中红细胞沉降的图像。在该图像中,空气/血浆交界面130和血浆/红细胞交界面132以清晰的界限(分开不同对比度的空间区域)被明确辨别。该空气/血浆交界面上方的空间134、血浆136以及阻断光线138的红细胞也显示在图5中。

[0073] 应该理解的是,不除外与该转子位置同步的闪烁照明或拍摄帧幅,但是在目前实

例中并不需要用它们来进行图像拍摄。在针对图5图像的非限制性示范中,一个200ms曝光时间(相对于离心旋转时间要短)被用于该CCD相机图像获取,以使该交界面130和132在离心期间清晰可见(见图5)。这个相比其转动周期要长(例如,如果在该时间段内发生多次转动会引起图像模糊)。该图像围绕转轴部分模糊不清,因此该空气/血浆交接面和血浆/红细胞交界面呈弧线形(也可能需要考虑到存在选通脉冲效应)。尽管该数据获取不需要帧幅拍摄与转动同步,但是一些实例可能会使用同步化处理。可选择地,一些未经同步化的实例可能会产生条纹状效果,这可以通过将较长时间曝光和图像处理联合在一起加以代偿。其他实例可能使用更快的图像获取技术生成图像以减小和(或)消除图像的模糊。一些实例可能使用频闪照明或其他技术对快速移动物体进行拍摄,例如离心期间容器内的样本。

[0074] 如图5中所见,透射光线穿过的该离心容器114的两个区域可能包括液体上方的空气134以及标记为130和132的空气/血浆和血浆/红细胞交界面之间的血浆。该空气/血浆交界面130本身呈现出一个弧形。实质上,没有光线可以穿过该红细胞所在的容器114(应该理解的是,该区域并非完全黑暗,因为当该容器114转动移出阻断位置时就会有透射光线射入)。

[0075] 在一个实例中,图像以每秒5帧的速度拍摄3分钟,伴有长时间曝光,然后被处理获取该沉降曲线。可选择地,该成像速率包括但不限于每秒1、2、4、8、16、32、64、和128幅图像。可选择地,曝光时间包括但不限于10、20、40、80、160、320、和640ms。测量期间的温度也可能不同。虽然此处的许多实例在室温下进行测量,但是不排除其他温度条件,例如37℃。温度的影响在进行校准时应该考虑在内,诸如用来确定该校正因子的经验型参数。而且,离心转速加速时间通常为3秒钟,但是不排除离心转速加速时间快一些或慢一些。

[0076] 对于非限制性示范,该所需有形血液成分沉降速率的测量可能被以下因素所限制:

[0077] 1) 该血浆/红细胞交界面位置与时间的关系符合一个指数关系;或者

[0078] 2) 通过在前数秒内交界面运动的速率得到一个参数,该参数可以与Westergren ESR一一对应。

[0079] 虽然不排除其他设定,应该理解的是沉降时间通常限制在该转子116达到其目标转速后的起始时间内,此时盛装该离心容器114的离心桶在该旋转平面内呈放射状取向,是拍摄和处理图像的最佳位置。

[0080] 数据预处理

[0081] 图像变形

[0082] 现在参照图6A-6B,此处的一个实例可能在分析之前使用一个图像预处理步骤,它可能是以下两个方面的一个结合体(1)将弧形交界面转换为一个水平交界面;以及(2)转动该图像以便对该放射状方向上任何小瑕疵进行补偿。它以一种忽略对该交界面Y轴位置影响的方式将偏心像素引入该中心轴线内,以使来自转动试管的模糊弧形成为现在的水平条纹状。

[0083] 如图6A-6B中所见,一个初始图像变形可能被用来对弧形进行补偿。图6B 图像显示了一个带有所感兴趣区域的长方形150,其横截面表现为该水平均值,两条短水平线表示计算时确认的该空气/血浆交界面130以及该血浆/红细胞交界面132的位置。

[0084] 这种图像变形对去除图6中所见垂直线的影响很有价值,该线由离心转动频率和

相机获取图像频率之间的一种频闪效应造成。测量一个很细的垂直(例如放射状)部分对这些线来说是有弱点的,因为它非常缓慢地移过该图像;但是直线变形允许在X方向(与该放射方向呈直角)进行均值计算,而且该描绘不受移动线条的影响。这种操作还可以提高信噪比。

[0085] 现在参考图7A-7C,显示了不同程度弧形补偿的示范。图像变形参数的选择可被选择引进一个理想的校正水平。图7A显示补偿太少。图7B显示补偿正合适。图7C显示弧形补偿太多。

[0086] 对于使用一种脚本的每一个数据组,它可以产生一系列带有不同弧形和转动角度校正的图像,在该图像上叠加一系列的水平线160允许我们判断何时该交界面成水平状(图7A-7C图像中的水平交界面)。这种弧形补偿正确程度的判断可以通过以一个程序化处理器来确定,设计用于图像处理、根据一个校准操作进行预设、或者可能根据人工审核进行选择。

[0087] 一旦这些参数被选择,所获取的图像信息,可以是一个录像,即用于完成该变形。一个感兴趣区域可能被选择以覆盖该空气/血浆交界面130和该红细胞界面132的整个位置范围。可选择地,一些实例可能选择一个仅覆盖交界面130或132 其中之一的感兴趣区域。可选择地,一些实例可能被设计瞄准该样本内一个或多个其他感兴趣区域。

[0088] 血沉曲线的提取

[0089] 现在参照图8A-8B,针对多幅图像中每一个时间点,此处所示技术的一个实例对感兴趣区域150内每一行(横过该容器114)的像素密度值进行平均,以生成一个单一竖列表示该容器向下放射的密度值。将每个时间点的竖列组合进一台波动曲线记录图内,例如一副图像,其中X轴代表时间而Y轴代表沿该试管走行的放射状位置。

[0090] 图8显示根据此处所描述的一个实例所绘制的一个波动曲线记录图。图8A中的波动曲线记录图显示了一段时间内(X轴)沿该试管(Y轴)的平均图像密度。图8A显示了一个空气交界面130、血浆136、血浆/红细胞交界面132、以及红细胞140。更特定的是,位于该图像上部附近的深色水平线代表了该空气/血浆交界面130;其下的浅色区域代表穿过该血浆136的透射光线;位于该图像底部的暗色区域是该光线被红细胞140阻断的位置。

[0091] 图8显示,为了提取该空气/血浆交界面和该血浆/红细胞交界面的位置,与时间有关的该交界面的一个第一个导数(边缘的探测)可能被确定。沿试管下移时,导数将与下移距离(Y轴)有关,而不是时间(X轴)。图8显示的是该空气/血浆交(上方)界面130和该血浆/红细胞(下方)交界面132的位置。

[0092] 在一个非限制性示范中,图8B所示图像中两个局部最大值的位置,代表该空气/血浆交界面的一个位置和代表该血浆/红细胞交界面的另一个位置将被确定。为了将这些位置(像素)转化为整个样本占有的容量和红细胞占有的容量,该离心管上部和底部Y轴位置(例如图2中显示的从该静态试管图像中所记录的位置)与已知的该离心管形状一起被用来作为参照位置。

[0093] 如图9所见,该血浆/红细胞交界面位置被转换为红细胞所占有的容量比例,并作出与时间的关系曲线,作为一个离心辅助的沉降曲线180。图9中的这一曲线是一个非限制性示范的结果,是离心辅助下从一段摄像中确定一个沉降曲线的一种方法。

[0094] 从沉降曲线中计算ESR

[0095] 为每一个样本取得图9所示的沉降曲线后,我们有许多可能的方法来获得与 ESR 相对应的参数。将该曲线减少至只用一个单一参数进行分析的一个简单方法是使用标准非线性最小二乘拟合将一个单指数拟合进该血浆/红细胞交界面曲线中。

[0096] 一个类似的示范显示在图10A中。作为图10A,数据在该图形中以黑点200 显示,X-轴是以秒为单位的时间,而Y轴是红细胞占有的容量比例。一个单一指数拟合以实线202显示。

[0097] 现在参照图10B,数据在该图形中以黑点200显示。图10B显示了一个大致的双线性拟合。由线性拟合210显示的该初始线性部分的梯度可能被确定,而且该初始线性阶段和表示压积减慢的非线性部分之间的转换时间212,在此处由红线 214显示。

[0098] 虽然这些使用标准非线性最小二乘拟合的简单技术可能生成一些ESR相关信息,但是,当这些测量与传统的Westergren ESR测量相比较时,基于非线性最小二乘(NLS)拟合的相关性还是有待改进的,因为NLS本身没有考虑特定的校正因子。

[0099] 血浆蛋白对ESR的影响

[0100] 为了获得与传统Westergren ESR值更接近的ESR参数,了解一些可能对ESR 测量有影响的因素是非常有帮助的。该感兴趣参数 (ESR) 对一定的血浆蛋白浓度会做出反应,而且通过向该血液样本中添加其中一种蛋白(例如纤维蛋白原)可以直接影响或操纵ESR。

[0101] 在当前的示范中,作为一种为样本提供一个广泛ESR数值范围的技术,外源性纤维蛋白原被用来生成血液样本,其ESR值跨越感兴趣的整个范围(在 Westergren方法中是0-120mm/小时)。图11显示添加纤维蛋白原是如何增加该 Westergren ESR数值的。

[0102] 如图11到14中所见,来自离心分析的几种参数显示出与纤维蛋白原水平(和后来的ESR)有一个很好的相关性,最显著的是源自一个单指数拟合的时间常数、压积开始时间、以及初始线性梯度。参考图12、13和14,一些实例中,这些参数中的每一个都可以被用来获得Westergren ESR的一个估计值。单指数拟合时间常数和压积起始时间都有作为Y轴独立度量尺寸的优势。压积起始时间和初始线性梯度具有明确生理意义的优势。

[0103] 图11显示Westergren ESR值随添加纤维蛋白原数量的增加而增加。图11表明了一个含有不同纤维蛋白原添加水平的单一示范。

[0104] 图12显示了一个来自该原始沉降曲线一个单指数拟合的时间常数,该曲线显示出与所添加的纤维蛋白原水平有很好的相关性。

[0105] 图13显示了细胞压积开始的时间,该曲线显示出与所添加的纤维蛋白原水平有很好的相关性。

[0106] 图14显示了该原始沉降曲线的初始线性梯度,该曲线显示出与所添加的纤维蛋白原水平有很好的相关性。

[0107] 红细胞比容对ESR的影响

[0108] 应该理解的是,除纤维蛋白原以外,红细胞比容是影响Westergren和其他ESR 测量值的另一个因素。事实上,Westergren红细胞沉降受红细胞比容影响非常大。在Westergren方法中,许多实验室或者对红细胞比容超过45%的样本结果不予以报告,或者在测量ESR之前将该样本的红细胞比容调整至一个固定水平(通常是 45%)。当前方法的实例确实较Westergren技术好,Westergren此时已达到饱和(例如对纤维蛋白原<10mg/ml无反应),而当前方法实例的未饱和界限超过15mg/ml。

[0109] 基于离心的ESR沉降较重力作用下测量ESR受红细胞比容水平的影响更大。至少此处的一些实例中,对红细胞比容依赖程度的增加还可能是由于其较低的容量 -以及随之而来的较小容器尺寸。增加的红细胞比容通常意味着该红细胞在变得压积之前已经开始相互靠近,由于表达自由移动生理性屏障而增加血液粘滞度,以及减少该交界面可以移动的最大距离,所有这些都会降低ESR,且与来自炎症的纤维蛋白原无相关性。

[0110] 为了说明红细胞比容这种异常复杂的影响,我们使用同一份血液样本,并在测量ESR之前对红细胞容器进行调整,基于离心的ESR测量值显示了一个具有典型的45%红细胞比容和正常的22mm/小时ESR的个体,如果该红细胞比容为60%,其所测ESR为5mm/小时(非常低);而当红细胞比容为35%时,其所测ESR为93mm/小时(非常高),尽管其颇具临床重要性的血浆蛋白水平并没有发生变化。换句话说,源于红细胞比容的ESR变化可以较临床医师感兴趣的血浆蛋白引起的ESR变化更具影响。

[0111] 有几种传统的方法可以对红细胞比容的这种复杂影响进行补偿。一种方法是使用例如来自Dintenfass (1974年)的红细胞比容补偿曲线。与其使用一个图表对红细胞比容进行校正,一种去除该复杂影响的更准确(如果更具劳动密集性)方法是在检测前将该红细胞比容转变为一个标准值。一些ESR技术,例如“红细胞比容校正的ESR”包括这样一个初始步骤,将红细胞比容处理到一个设置好的数值,例如45%,这样所测得的ESR真实地反映出血浆蛋白含量(临床相关的)的影响,而不是红细胞比容(Borawski and Myśliwiec 2001)。

[0112] 如图15中所见,为了理解和估测红细胞比容的影响,一套11份样本的红细胞比容被调整至35%、45%和55%,然后通过离心ESR和Westergren ESR 技术进行检测。针对红细胞比容校正后的临床血液样本,对离心单指数时间常数与Westergren ESR的相关性进行显示。在每一个红细胞比容值内其样本的相关性都非常好,但是所有红细胞比容之间的样本则没有良好的相关性。

[0113] 现在参照图16,含有不同红细胞比容的不同临床样本,在基于离心的ESR实验中,其血浆/红细胞交界面位置作为时间的一个函数被绘制在图表中。所显示的几个血液样本含有未调整的或调整后的纤维蛋白原水平和红细胞比容:红色方形:35%;绿色三角形:45%;以及蓝色菱形:55%的红细胞比容。针对一个调整到给定红细胞比容值的样本,图16显示了其完整的沉降信息,而图17显示了在测量初始阶段一个较短时间内(<10s)的沉降信息。该样本的沉降信息显示出在初始测量阶段,该交界面存在一个急剧下降,与时间几乎呈线性关系。然后,由于该红细胞挤压在一起,其沉降速率变慢。许多与不同红细胞比容(所指示的)和不同ESR速率相符合的数据组显示在图16中。

[0114] 图17中显示了在短期初始阶段(<10s)内的血沉,在这样一个短期测量时间内获得的高质量数据显示,在该初始阶段,所有红细胞比容水平下都呈现出一个线性沉降速率。在此处所描述的一个实例中,该沉降信息的线性区域可以被用来获取沉降速率。该原始沉降速率被作成与Westergren ESR的关系曲线。如果与图17中三个红细胞比容水平相对应的三条拟合线中断,则需要对红细胞比容进行补偿,以从原始数值中获得具有临床意义的ESR。

[0115] 作为进一步的示范,图18A显示了从沉降信息(未进行红细胞比容校正)中获取的该红细胞沉降率的对数函数。图18A还显示出,基于离心法的沉降速率较基于Westergren法的沉降速率对红细胞比容的依赖性更强。较细的离心管横截面增加对于红细胞液态流动会产生水动阻力。该离心过程涉及血浆流经一个红细胞血管床,这会提供水动阻力。该阻力是

红细胞容量分数,诸如红细胞比容的一个函数。

[0116] 为了在基于离心法的沉降率和Westergren沉降率之间获得一个更好的相关性,该基于离心法的沉降率需要校正红细胞比容的影响。所使用的校正公式可以表示为:

$$[0117] \quad U_{\text{corr}} = \frac{U_{\text{uncorr}}}{\left(1 - \frac{\phi}{\phi_{\text{max}}}\right)^{\gamma}},$$

[0118] 其中 U_{uncorr} 和 U_{corr} 分别是未校正(原始的)和校正后的沉降速率, ϕ 是细胞的容量分数(红细胞比容),以及 ϕ_{max} 和 γ 通过曲线拟合获得的经验性参数。该校正因子代表一个简单的数学公式来解释有红细胞造成的该增加的阻力。应该理解的是,这个函数公式被发现能够校正红细胞比容,但是其他函数应该也可以达到目的。

[0119] 对于非限制性示范,一种计算方法 ϕ_{max} 和 γ 是通过一种校准技术的方法,例如但不限于以下情况:对于一套不同的样本(不同的红细胞比容、ESR等等),通过使用一种对照方法以及该基于离心的方法确定该ESR数值。该 ϕ_{max} 和 γ 参数作为针对每个离心设定的一个校准被确定而且可能至少部分地根据容器几何形状和样本容量而改变。因此,如果其中至少一个因子发生了变化,则需要重新计算该参数。针对此处所描述的一个离心设置,这些参数所获得的最佳数值为: $\phi_{\text{max}} = 1.67$ 和 $\gamma = 3.85$ 。应该理解的是这些参数适合于最优化的目的,与物理性参数无直接相关。

[0120] 红细胞比容的测量技术

[0121] 出于计算红细胞比容校正因子的目的,应该理解的是在开始基于离心法的血沉检测之前,该红细胞比容数值可能已经知道;在这种情况下,校正后的ESR结果可以根据该沉降的初始线性部分和已知的红细胞比容水平被迅速获得,而不必等待通过离心将红细胞完全压积。可选择地,一些实例可能在离心过程中或离心后确定红细胞比容水平。

[0122] 通过非离心法,在离心过程前、过程中或过程后进行红细胞比容的测量至少包括以下的步骤:一项涉及血红蛋白浓度测量的技术。例如,在大约99%的人群中,血红蛋白测量值与红细胞比容水平之间存在着1:1的对应关系。因此,如果血红蛋白检测数据被提供,那么在基于离心法血沉检测开始前该红细胞比容水平通常是已知的。

[0123] 现在参照图18C,对一个基于血红蛋白的红细胞比容测量检测操作规程实例进行描述。血液与水按1:100比例稀释。该稀释后的样本与改良的Drabkin氏反应试剂(Sigma D5941,含有辅以0.015%Brij 35的碳酸氢钠、铁氰化钾、和氰化钾)进行混合(1:3)。37℃下孵育10分钟,在540nm吸收波长下测量该反应产物(氰-高铁-血红蛋白)的吸收率。该检测经小牛血红蛋白(Sigma 2500)校准,在0-20 g/dL范围内提供一个线性剂量反应曲线。

[0124] 使用一个检测操作规程进行基于血红蛋白的测量,现在将讨论对红细胞比容结果进行校正。对人血液样本通过血浆和红细胞重组(通过离心收集)进行处理以提供一个较宽的红细胞比容数值范围。这些样本按以上方法进行检测,使用一个标准的离心毛细管红细胞比容检测,对结果的校正显示如下。如图18C中所见,其结果的相关性是非常准确的,斜率=1、截距=0、且相关系数(R^2)=0.99。

[0125] 另一个用于红细胞比容测量的技术涉及显微成像。使用一个有固定深度的比色杯和一个稀释到一个已知程度的血液样本,红细胞比容在该设备内也可以被测量。对带有这样一个比色杯的系统的描述可以在美国专利申请序列号13/244,947 中找到,且因各种目

的完全以引用的方式并入本文中。红细胞比容可以通过以下显微测量被确定：(1) 每个视野中的红细胞计数，和(2) 平均红细胞容量。比较受欢迎的方法是：(1) 暗视野显微技术，和(2) (1)+荧光显微技术，使用荧光标记的抗人CD-35(红细胞表面抗原)。然后使用图像分析技术。

[0126] 特别是，一种测量红细胞比容的方法可能涉及测量该样本的光密度。参见例如Lipowsky等“Hematocrit determination in small bore tubes from optical density measurements under white light illumination”*Microvascular Research*, Volume 20, Issue 1, July 1980, Pages 51-70; [http://dx.doi.org/10.1016/0026-2862\(80\)90019-9](http://dx.doi.org/10.1016/0026-2862(80)90019-9)，因各种目的完全以引用的方式并入本文中。Lipowsky讨论了在小口径的玻璃管内流动的血红细胞比容与白光(钨)照明下其光密度之间的关系，该关系在不同试管管腔直径下被检测。至少在此处的一些实例中，由于被照明的是一个小小口径试管的血液，因此所有这些数据都是可提供的。

[0127] 在其他一些实例中，红细胞比容水平可以通过显微镜或其他放大观察仪器对该血液样本的一部分进行检测来确定，例如但不限于在一个可能已知大小的有限观察区域内测量红细胞的数量和平均大小。在这种方法中，该红细胞比容可能根据红细胞的这种光学特性来确定。

[0128] 在另一个示范中，红细胞比容可以根据对该血液样本中红细胞进行压积的一个完整离心过程来测量。这种压积水平可以被用来确定红细胞比容。在这个示范中，只有该基于离心法血沉检测中的线性部分被用来确定一个校正的ESR。对于非限制性示范，呈线性的交界面位置测量的最初始部分以及也呈线性的最后结束部分，是该沉降曲线中可被用来计算一个红细胞比容校正后的ESR值的两个部分。如图16中所见，这个非限制性示范可能使用一个与离心后初始阶段相对应的该沉降曲线的一个线性部分182和接近结束时该沉降曲线的另一个线性部分184，此时的压积本质上已经完成，曲线大致呈水平线。在该沉降曲线线性部分182和184之间的非线性部分大致上不用来计算红细胞比容校正因子。

[0129] 上面是一个红细胞比容测量技术和测量红细胞比容水平的其他方法的非详尽清单，不除外使用此处所描述的血沉测量技术。

[0130] 在一个联合使用这些方法测量ESR的非限制性示范中，含有该样本的一个容器可能在控制条件下在第一时间段被离心，例如但不限于与该沉降曲线线性部分相关的时间段。在一个非限制性示范中，该离心被控制在针对离心机转子的一个特定的转速范围内，这样对加速性沉降过程施加一个大致持续的离心力。该初始阶段的沉降情况，如前所述，通常是呈线性的，而且可能非常适合对开始离心后该材料中有形成分初始阶段的沉降图像进行拍摄。对于非限制性示范，该图像可以在几种不同情景下被拍摄，例如但不限于：a) 该容器位于该离心机内时；b) 该容器位于该离心机内时，但离心呈中止状态；或者c) 将该容器从离心机中移出后进行成像。在一些实例中，该血沉可以通过一张单独的照片进行计算。应该理解的是，开始时间点 t_0 的水平是该上清液或有形成分沉淀后其上方残余液体的月状面位置。该沉降水平是图像中初始加速沉降阶段后沉淀后的有形成分的水平。

[0131] 用于计算ESR的红细胞比容的测量可以使用至少一种方法进行，例如但不限于以下描述的方法：它可以在带有该离心机的同一个系统内进行，或者可选择地，可以使用一个完全不同的装置来进行。在一个非限制性示范中，获得该沉降图像后，该样本可能被离心以

完成沉降过程并将有形成分压积为一个小团块。作用于一个容器的有效重力可以使该沉淀(“小团块”)完全聚积在该试管的底部。其上清液在不干扰该沉淀物的情况下,从该试管中被倒出,或被一个移液管吸出。

[0132] 红细胞比容校正后的ESR图形

[0133] 图18B显示了从红细胞比容影响校正后沉降曲线中获得的红细胞沉降率的对数图形。从相关系数的提高中可以看出,该红细胞比容校正(例如,见图18A) 能够从根本上消除红细胞比容对ESR的影响。

[0134] 红细胞比容调整后的临床样本,在每一个红细胞比容水平都与ESR有着很好的相关性,而且正如所期望的,还可以发现红细胞比容的显著作用。该离心方法也可以被用来获得准确的红细胞比容数值,而红细胞比容的影响可以被校正。

[0135] 图19是图18中数据的一个重新绘制,其中红细胞比容的影响很明显地减小,并对通过红细胞比容校正的ESR数值(当前的方法)与传统Westergren检测技术获得的ESR数值之间良好的相关性加以证实。

[0136] 现在参照图20,当前方法所获得的红细胞比容校正的ESR数值与图19中所见的Westergren获得的ESR数值之间的关系并不是一个线性关系。为了获得一个与Westergren ESR线性相关的一个沉降速率的估测,从离心技术中获得的红细胞比容校正后的数据可能应用以下公式被进一步校正:

[0137] 估计的Westergren ESR = $10^{((\text{LOG}(\text{HCT校正后的 ESR}) - \text{LOG}(644.11)) / 0.1367))}$,其中使用的关系和参数源自图18B中的分析。

[0138] 图20显示了一个目前实例获得的红细胞比容校正后以及线性变形后的对数(ESR)值与Westergren ESR(未经红细胞比容校正)的比较。这个图21中显示了在Westergren法和目前方法之间应用了校准(基于从图19计算出的拟合)和呼应。该绘制图形中的参照线是一个Y=X线。这个图20是其准确性的一个证明。

[0139] 实验方法

[0140] 用于不同图形的数据是通过使用以下技术获得的。这些方法做为示范被提供,意味着无限制性。

[0141] 样本:使用新鲜的EDTA抗凝血液样本。这里使用EDTA是“改良Westergren”法的标准用法。样本保持在室温下,测量前进行再悬浮。

[0142] 红细胞比容的调整:离心样本获取压积的红细胞比容(例如在5000相对离心力(RCF)下离心20分钟),并分离血浆和细胞。将红细胞与来自同一份样本中的血浆混匀,并添加更多的血浆以获得一个所需的红细胞比容水平。

[0143] Westergren ESR的测量:进行Westergren ESR测量需要1ml样本(使用‘Sedigren’牌试管,遵循其内的操作规程)。通过录像对红细胞沉降进行观察和测量。

[0144] 用纤维蛋白原对RBC Zeta蛋白(和ESR)进行调整:对于图11-14中所示示范,将小牛纤维蛋白原溶解于血液中。在一个示范中,对于一个红细胞比容40%的样本来说,0—10mg/mL纤维蛋白原的浓度范围可以产生的ESR范围是5—100 mm/h。

[0145] 离心沉降曲线的测量:将一份25uL全血样本加至一个离心容器内。同时待决的美国专利申请序列号13/355,458and 13/244,947中所描述的一种离心浮桶被切开一个狭孔,调整后当以一个水平方位离心时(转轴呈垂直位)允许光线通过该浮桶。在这个非限制性示

范中,光源可能是一个1W的绿色LED灯,诸如新泽西州Newton Thorlabs所提供的,调整其亮度(通常是~10%)使到达探测器的光线不饱和。将一个网络摄像机或者诸如Logitech公司所提供的其他成像设备放置在图3所示转动平面上方10mm处。测量时间为200ms。使用一种无损压缩编解码器(“huffyuv”) 在已知时间最多为3分钟的时段内,以5帧/秒(fps)速度进行拍摄。

[0146] 图像变形:离心过程中通过对该离心容器的视觉观察而获得的图像被按图6A 和7C中所描述的方法进行处理。

[0147] 沉降曲线的获取:对图像中经过一段时间后的红细胞/血浆以及其他交界面位置按图8A-9中所描述的方法进行绘图。

[0148] 用红细胞比容校正因子对曲线进行拟合:使用图10A-10B和图16-20中所描述的使用或不使用红细胞比容校正因子的不同技术,通过曲线拟合的方法,对该沉降曲线进行进一步的处理以获得沉降速率的信息。

[0149] 非红细胞血液成分的测量

[0150] 尽管主要在用于红细胞沉降速率测量的上下文中对目前的方法进行描述,但是应该理解的是,此技术可适用于不是红细胞的其他有形成分的沉降率测量。一些实例可能测量血小板的沉降率。一些实例可能测量白细胞的沉降率。可选择地,其他有形成分的沉降率也可以被测量。

[0151] 在图21中的非限制性示范中,使用此处所描述的基于离心的方法所获得的波动曲线记录也显示出,除空气/血浆交界面130和红细胞/血浆交界面132 之外,还有一个“阴影”部分显示了一个白细胞和血小板之间的交界面141。因此,前面提及的红细胞以及前面提及的与白细胞相对应的第二个沉降率都可以在图21中的波动曲线记录中观察到。

[0152] 因此,如图21中所见,一些离心方法的实例可能被用来对白细胞沉降速率进行顺序的或同时的测量,该白细胞沉降速率对描述患者健康情况的特定方面可能是有用的。例如,当白细胞被激活和(或)聚集时,其生理特性会发生变化。这两种现象都是评估白细胞功能的很大兴趣点。在离心力的作用下,白细胞发生沉淀,但是它们沉淀的速率明显慢于红细胞。白细胞沉降速率至少是以下之一的一个函数:白细胞密度、形状和聚集状态。测量沉降率可以探测到以上的一种或多种变化,然后这些变化被用来对患者健康状况的特定方面进行描述。

[0153] 对于非限制性示范,应该理解的是折射率或可能的光散射变化,而不是吸收率的变化,可被用来测量该血液成分交界面位置。可选择地,一些实例可能两种方法均用。图21显示的数据表明,由于折射率或光散射的变化,而并非吸收率的变化,造成白细胞交界面的可探测性。在一个实例中,RBC交界面的位置是基于吸收率变化获得的,因为该血红蛋白在光谱的绿光部分有非常高的吸收率。如果使用正确波长的光线(非常长的波长)RBC交界面也可能被同时监测到。因此,光散射或折射率的变化也可以被单独使用或与吸收率联合使用作为另一种方式对交界面位置进行测量,或对某些交界面,例如白细胞或血小板交界面进行探测,这些交界面仅通过探测吸收率是看不到的。

[0154] 一个整合自动系统内的检测过程

[0155] 现在参考图22,应该理解的是此处描述的处理程序可能使用自动化技术实施。自动化处理可能在一个整合的自动化系统中使用。在一些实例中,它可能是在一个含有许多

功能性成分且被一个普通外壳包绕的单一装置内。用于沉降测定的处理技术和方法可能被预先设置。可选择地,它可能基于不断变化的操作规程或程序,预期与美国专利申请序列号13/355,458和13/244,947中所描述的方式相同,二者都已完全纳入本协议的所有目的参考中。

[0156] 图22所示的一个非限制性示范中,一个整合的设备500可能与一个可被用来控制该设备许多成分的程序化处理器502一起被提供。例如,在一个实例中,该处理器502可以控制单一或多个移液管系统504,它可能按箭头506和508所指沿 X-Y和Z轴方向移动。同一个或不同的处理器还可能控制装置内的其他成分512、514、或516。在一个实例中,大量的该成分512、514或516组成一个离心机。

[0157] 如图22所见,处理器502的控制可能允许移液管系统504从暗盒510处获取血液样本,并将样本移动至其中一个组成部分处512、514或516。这种移动可能包括将样本分配至暗盒510内一个可移除容器内,然后将该可移除容器传送至其中一个组成部分处512、514或516。可选择地,该血液样本被直接分配到一个已经安装在其中一个组成部分512、514或516上的容器内。在一个非限制性示范中,其中的一个组成部分512、514或516可能是一个带有图3所示成像设计的离心机。其他组成部分512、514或516执行其他的分析、检验或监测功能。在一个非限制性示范中,离心机内的一个样本容器,例如其中的一个组成部分512、514或516,可能被一个或多个操纵器从其中一个组成部分512、514或516移动到另一个组成部分512、514或516处(或者可选择地,其他位置或设备)进行进一步的样本和(或)样本容器的处理。一些实例可能使用移液管系统504与该样本容器衔接,并将其从其中一个组成部分512、514或516移动到系统的另一个位置。在一个非限制性示范中,它可能很有效地将样本容器移动到一个分析站(例如但不限于成像),然后再将容器移回到离心机处已备进一步处理。实例中,这项操作可能使用移液管系统504或设备中的其他液体处理系统来完成。在一个非限制性实例中,将容器、吸头、或类似物从暗盒510移动到其中一个组成部分512、514或516、或系统其他位置(反之亦然)的操作也可能使用移液管系统504或设备中的其他液体处理系统来完成。

[0158] 前面提及的所有配置可能被整合进一个单独机壳520内,并用于台式或小安装面积的设计。一个示范中,小安装面积系统可能占用的面积大约为 4m^2 或以下。一个示范中,小安装面积系统可能占用的面积大约为 3m^2 或以下。一个示范中,小安装面积系统可能占用的面积大约为 2m^2 或以下。一个示范中,小安装面积系统可能占用的面积大约为 1m^2 或以下。一些实例中,该装置的占地面积可能小于或等于 4m^2 、 3m^2 、 2.5m^2 、 2m^2 、 1.5m^2 、 1m^2 、 0.75m^2 、 0.5m^2 、 0.3m^2 、 0.2m^2 、 0.1m^2 、 0.08m^2 、 0.05m^2 、 0.03m^2 、 100cm^2 、 80cm^2 、 70cm^2 、 60cm^2 、 50cm^2 、 40cm^2 、 30cm^2 、 20cm^2 、 15cm^2 、或 10cm^2 。服务点设置内的一些适合的系统在美国专利申请序列号13/355,458和13/244,947内被描述,二者都已完全纳入本协议的所有目的参考中。本实例可能设计与这些专利申请内所描述的任何模式或系统一起使用。

[0159] 在本发明已经参考一定的特殊实例被描述和说明的同时,那些本领域的专业技术人员会领悟到,在不背离本发明的实质和范围的情况下,可能会进行各种变通、改变、修饰、替代、删除、或附加步骤和操作规程。例如,上述任何一个实例,应该理解的是血浆分离的其他技术也可能与离心机一起使用,或替代离心机使用。例如,一个实例可能在初始阶段离心样本,然后该样本可能被置于滤过器内去除有形的血液成分以完成分离操作。虽然本实例

在离心机部分被描述,但其他加速分离技术也可能适宜与此处描述的沉降率测量方法一起使用。一些实例可能选择性的将此处所描述的红细胞比容校正技术与以引用方式完全纳入本文的美国专利 6,204,066 种所描述的测量技术一起使用。此处的一些实例可能对该血液样本进行预处理,以将该血液样本的红细胞比容值预设置到一个预定的数值,以消除由红细胞比容带来的变异。一些实例还可能使用传统的方法对红细胞比容水平进行调整。应该理解的是,虽然本实例在血液标本部分进行描述,但此处的技术也可能被设计用于其他样本(生物学的或其他)。

[0160] 可选择地,至少一个实例可能使用一个变速离心机。通过反馈,例如但不限于样本交界面位置的成像,离心速度可能被改变以保持压积曲线与时间的线性关系(直到被完全压积),并从离心速度资料,而不是沉降率曲线中提取ESR数据。在这种系统内,一个或多个处理器可被用于反馈控制线性压积曲线的离心效果,而且离心速度资料也会被记录。有赖于被跟踪的界面,沉降率数据根据离心速度进行计算。在一个非限制性示范中,在压积过程接近完成时,系统会使用一个较高的离心速度来保持线性曲线。

[0161] 进一步,本领域的专业技术人员会意识到本发明中的任何实例都可能被用来从人类、动物或其他研究对象中进行体液样本采集。可选择地,用于沉降检测的血液容量可能是1mL或以下、500 μ L或以下、300 μ L或以下、250 μ L或以下、200 μ L或以下、170 μ L或以下、150 μ L或以下、125 μ L或以下、100 μ L或以下、75 μ L或以下、50 μ L或以下、25 μ L或以下、20 μ L或以下、15 μ L或以下、10 μ L或以下、5 μ L或以下、3 μ L或以下、1 μ L或以下、500 μ L或以下、250nL或以下、100nL或以下、50nL或以下、20nL或以下、10nL或以下、1nL或以下。

[0162] 另外,浓度、数量、以及其他数字数据都可能以一个范围的格式显示。应该理解的是,这种范围格式仅仅出于方便和简洁的目的被使用,其结果应该被灵活地解释,不仅包括明确列出的范围界限数值,还要包括所有单个数值或包含在该范围内的子范围数值,就像每一个数值和子范围被明确列出一样。例如,一个大约1nm到20nm的尺寸范围应该被解释为不但包括明确列出的1nm和20nm这个界限,还应该包括单独的尺寸例如2nm、3nm、4nm,以及子范围例如10nm到50nm、20nm到100nm等等。

[0163] 这里讨论或引用的出版物仅作为本申请提交日期前的发现被提供。本条规定并不被视为承认本发明在利用以往发明价值上不得早于类似出版物。进一步讲,出版物所提供的日期可能与真正出版日期有差异,这可能需要独立确认。这里所提及的所有出版物都是以引用的方式并入本文中,用于显示和描述与被引用出版物有关的结构和(或)方法。以下申请因各种目的完全以引用的方式并入本文中。美国专利申请序列号13/355,458和13/244,947以及美国临时申请序列号61/673,037,题目:“快速测量小样本容量中有形血液成分的沉降速率”,提交日期:2012年7月18日;美国专利8,380,541,8,088,593;美国专利号2012/0309636;美国专利申请序列号61/676,178,提交日期2012年7月26日;PCT/US 2012/57155,提交日期2012年9月25日;美国申请序列号13/244,946,提交日期2012年9月26日;美国专利申请13/244,949,提交日期2011年9月26日;以及美国申请序列号61/673,245,提交日期2011年9月26日。

[0164] 下面的段落列举了此处所描述的至少一些实例的不同方面:

[0165] 方面1:一种方法含有:在一个时间段内对一份血液样本使用一种加速血液成分分离技术,使有形血液成分和血浆分离;加速血液成分分离开始后,为所述血液样本内至少一

种有形成分建立一个时间相关的压积曲线,所述压积曲线有一个接近线性的起始部分;至少根据下列条件来确定该有形血液成分的沉降速率:该压积曲线和一个红细胞比容校正因子。

[0166] 方面2:一个方法含有:在一个容器内对一份血液样本离心一段时间;离心开始后,为所述血液样本中的至少一种有形血液成分绘制一个时间相关的压积曲线,所述的压积曲线有一个接近线性的起始部分;通过使用一个红细胞比容校正因子,在所述压积曲线的近似线性部分,对红细胞比容对该有形血液成分沉降率的影响进行校正。

[0167] 方面3:一个方法含有:在一个容器内对一份血液样本离心一段时间;离心开始后,为所述血液样本中的至少一种有形血液成分绘制一个时间相关的压积曲线,所述的压积曲线有一个接近线性的起始部分;根据该公式通过使用一个红细胞比容校正因子,在所述压积曲线的近似线性部分,对红细胞比容对该有形血液成分沉降率的影响进行校正。

$$:U_{corr} = \frac{U_{uncorr}}{\left(1 - \frac{\phi}{\phi_{max}}\right)^{\gamma}},$$

[0168] 其中 U_{uncorr} 和 U_{corr} 分别是未校正(原始的)和校正后的沉降速率, ϕ 是细胞的容量分数(红细胞比容),以及 ϕ_{max} 和 γ 通过曲线拟合获得的经验性参数。

[0169] 方面4:任何一个前面讲述的方法,其中针对该红细胞比容校正因子进行的曲线拟合含有:用一个参照技术获得的沉降速率对基于离心技术所得的沉降速率进行校准。

[0170] 方面5:任何一个前面讲述的方法,其中的参照技术是Westergren技术。

[0171] 方面6:任何一个前面讲述的方法,其中15mg/ml高的纤维蛋白原水平并不影响压积沉降速率的测量。

[0172] 方面7:任何一个前面讲述的方法,其中所述的血液样本为大约100uL或更少。

[0173] 方面8:任何一个前面讲述的方法,其中所述的血液样本为大约50uL或更少。

[0174] 方面9:任何一个前面讲述的方法,其中所述的血液样本为大约25uL或更少。

[0175] 方面10:任何一个前面讲述的方法,其中在一个第一时间段内以一个第一种速度离心,然后在一个第二时间段内,以一个更快的第二种速度进行离心。

[0176] 方面11:任何一个前面讲述的方法,其中使用一台离心机允许在离心时对该血液样本进行视觉观察,以建立该血液样本中的一种或多种有型成分之间的交界面位置。

[0177] 方面12:任何一个前面讲述的方法,其中使用一台带有一个窗口的离心机,可以对该血液样本进行视觉观察以建立一段时间内红细胞/血浆的交界面位置。

[0178] 方面13:任何一个前面讲述的方法,设计使用一台离心机、一个光源、和一个图像摄取设备,对该血液样本进行视觉观察以建立一段时间内红细胞/血浆的交界面位置。使用一台带有一个窗口的离心机,可以对该血液样本进行视觉观察以建立一段时间内红细胞/血浆的交界面位置。

[0179] 方面14:任何一个前面讲述的方法,其中通过拍摄一段时间中一个离心容器内一种或多种有形血液成分交界面位置的多个图像采集压积曲线数据。

[0180] 方面15:方面14中的一种方法,其中该多幅图像中的像素位置被用来准确地确定交界面的位置。

[0181] 方面16:方面14中的一种方法,其中一旦该离心机开始达到一个最小运转速度后,即开始拍摄图像。

- [0182] 方面17:方面14中的一种方法,其中该离心机开始转动后,即开始拍摄图像。
- [0183] 方面18:任何一个前面讲述的方法,其中在样本离心过程当中采集压积曲线数据。
- [0184] 方面19:任何一个前面讲述的方法,其中离心被用于获取该红细胞比容的准确数值,并校正红细胞比容对沉降速率测量值的影响。
- [0185] 方面20:任何一个前面讲述的方法,其中校正红细胞比容包括对该所述曲线中出现的多个有形血液成分交界面位置进行一个数学功能计算,所述功能将被用来纠正红细胞比容所造成的血沉速率变异。
- [0186] 方面21:任何一个前面讲述的方法,其中不使用压积曲线中非线性部分的数据确定红细胞比容校正因子。
- [0187] 方面22:任何一个前面讲述的方法,其中其样本中的红细胞比容水平来自于不同于离心的技术。
- [0188] 方面23:任何一个前面讲述的方法,其中 $\Phi_{\text{最大}}$ 和 γ 是用于最佳拟合效果,与物理参数无直接相关性。
- [0189] 方面24:任何一个前面讲述的方法,进一步含有将一个曲线交界面转化为一个直线交界面的图像变形技术。
- [0190] 方面25:任何一个前面讲述的方法,其中对红细胞比容的校正能够本质上消除红细胞比容对有形血液成分沉降速率的影响。
- [0191] 方面26:任何一个前面讲述的方法,其中对图像变形参数进行选择,对有形血液成分交界面位置的录像进行图像变形,然后选择一个感兴趣的区域同时覆盖空气/血浆交界面和红细胞交界面的全部区域。
- [0192] 方面27:任何一个前面讲述的方法,其中该录像中的每一个时间点、穿过该样本容器感兴趣区域内的每一行像素强度值被平均后都会产生一个沿该样本容器呈放射状向下、代表强度的单一竖列。
- [0193] 方面28:任何一个前面讲述的方法,其中针对每一个时间点的竖列数据被组合成一个波动曲线记录图。
- [0194] 方面29:方面28的方法中,其中图像中两个局部最大值的位置,代表该空气 /血浆交界面的一个位置和代表该血浆/红细胞交界面的另一个位置将被确定。
- [0195] 方面30:方面28的方法含有将这些位置(像素)转化为该整个样本占有的容量和红细胞占有的容量的功能,该离心管上部和底部Y轴位置与已知的该离心管形状一起被用来作为参照位置。
- [0196] 方面31:任何一个前面讲述的方法,含有将血浆/红细胞交界面位置转化为红细胞占有的容量分数的功能,并作出与时间的关系曲线作为一个离心沉降曲线。
- [0197] 方面32:任何一个前面讲述的方法,其中一个沉降信息的线性区域被用来获取一个沉降速率。
- [0198] 方面33:任何一个前面讲述的方法,进一步含有获取一个与Westergren ESR 线性相关的沉降速率估计值,并使用该公式对源自离心的红细胞比容校正数据进行进一步校正。估计的Westergren ESR = $10^{\left(\left(\text{LOG}(\text{HCT}_{\text{校正后的}} \text{ ESR}) - \text{LOG}(a) \right) / b \right)}$ 。
- [0199] 方面34:任何一个前面讲述的方法,进一步含有红细胞比容校正的以及线性变形的Log (ESR) 数值以建立一个沉降速率的线性图形。

- [0200] 方面35:任何一个前面讲述的方法,其中该血液样本是全血。
- [0201] 方面36:任何一个前面讲述的方法,其中该血液样本是一份抗凝标本。
- [0202] 方面37:任何一个前面讲述的方法,其中该有形血液成分是白细胞。
- [0203] 方面38:任何一个前面讲述的方法,其中该有形血液成分是血小板。
- [0204] 方面39:任何一个前面讲述的方法,进一步含有离心开始后确定白细胞沉降速率的功能,其中对白细胞沉降率的测量至少描述了有关白细胞的以下特性之一:细胞密度、形状和聚积状态。
- [0205] 方面40:一种方法含有:从一个加速血液样本压积过程中采集一段时间内有形血液成分和血浆交界面位置的多幅图像;多所述多幅图像进行图像变形,将带有取向交界面的图像变形为校正后的直线交界面图像;根据所述校正图像中交界面的位置,对所述血液样本中至少一种有形血液成分建立一个时间相关的压积曲线。
- [0206] 方面41:一种方法含有:对一个容器内的一份血液样本离心一段时间;从一个加速血液样本压积过程中采集一段时间内有形血液成分和血浆交界面位置的多幅图像;多所述多幅图像进行图像变形,将带有取向交界面的图像变形为校正后的直线交界面图像;根据所述校正图像中交界面的位置,在离心开始后对所述血液样本中至少一种有形血液成分建立一个时间相关的压积曲线。
- [0207] 方面42:一种方法含有:使用一个程序化的操作器控制系统将至少一份血液样本的一部分从一个血液样本位置传送到一个离心容器内;使用程序化操作器控制下的一个样本处理系统将所述的容器从一个第一可访问位置传送到含有一个第二可访问位置的离心机内;在该容器内对该血液样本离心一段时间;离心后收集至少一幅有形血液成分和血浆交界面位置的图像;
- [0208] 离心开始以后针对所述血液样本中至少一种有形血液成分,根据该图像中交界面的位置绘制出一个时间相关的压缩曲线。
- [0209] 方面43:任何一个前面讲述的方法,其中该离心机含有一个直径大约为15cm 或以下的转子。
- [0210] 方面44:任何一个前面讲述的方法,其中该离心机含有一个直径大约为10cm 或以下的转子。
- [0211] 方面45:任何一个前面讲述的方法,其中该离心机含有一个转子,运动状态下其面积的最长径线大约为15cm或以下。
- [0212] 方面46:任何一个前面讲述的方法,其中该离心机含有一个转子,运动状态下其面积的最长径线大约为10cm或以下。
- [0213] 方面47:一种方法含有:对一个容器内的一份血液样本离心一段时间;变化离心速度,在直到压缩过程完成这一段时间内,对至少一种有形血液成分绘制一个线性压缩曲线;监测该时间段至少一个部分的离心速度模式;然后根据该离心速度模式决定血液成分的沉降速率。
- [0214] 方面48:一种方法含有:对一个容器内的一份血液样本离心一段时间;在一个起始时间点收集至少一幅第一个有形血液成分和血浆交界面位置的单一图像;当沉降速率还是一条直线时,在一个第二时间点收集至少一幅第二个有形血液成分和血浆交界面位置的单一图像;根据计算出的线性沉降率和一个红细胞比容校正因子,对所述血液样本中至少一

种有形血液成分的沉降率进行计算。

[0215] 方面49:一个设备用来与一份样本一起使用,该设备含有:

[0216] 一个离心机,含有一个离心容器架设计用于在离心过程中允许对该容器架内血液成分的交界面位置进行探测。

[0217] 方面50:方面49中的设备,其中该离心机含有视窗允许离心过程中对该容器架进行视觉观察。

[0218] 方面51:方面49中的设备,其离心机中,一个照明源允许对该样本中血液成分的交界面进行探测。

[0219] 方面52:一个系统含有:一个离心机,带有一个离心容器架设计用于在离心过程中允许对该容器架内血液成分的交界面位置进行探测;一个样本处理系统用来将一份血液样本从一个第一位置传送到该离心机的另一个位置;以及一个程序化的处理器用来记录至少一部分离心过程中的交界面位置。

[0220] 本文中受版权保护管制的材料。版权所有者(此处是申请人)不反对专利材料和发明的传真复制产品出现在美国专利和商标局的资料或记录中,除此以外保留所有版权权利。以下注意事项将用于:版权2013,Theranos公司。

[0221] 在以上对本发明不同实例进行全面描述的同时,有可能使用各种替代物、修饰物和等价物。因此,本发明涵盖范围不应该参照上述描述来决定,而应该参照附加权利要求以及等价物的全部范围来决定。任何配置,无论是否愿意,都可以与其他任何配置结合,无论是否愿意。附加权利要求不应该被解释作为包括意义加功能上的限制,除非类似限制已经在所给权利要求中使用词组“意味着”明确列出。应该理解的是,正如在此说明和以下整个权利要求中所使用的,除非上下文明确指明,单数形式“一个(a)”、“一个(an)”和“这个、该(the)”包括复数概念。还应该理解的是,正如在此说明和以下整个权利要求中所使用的,除非上下文明确指明,“在..内(in)”的意思包括“在..内(in)”和“在..上(on)”。最后,正如在此说明和以下整个权利要求中所使用的,除非上下文明确指明,“和(and)”和“或(or)”的意思既包括连接意思也包括转折意思,而且可以互相转换使用。因此当上下文中使用“和(and)”或“或(or)”时,除非上下文明确指明,这种连词用法并不除外“和(或)(and/or)”的意思。

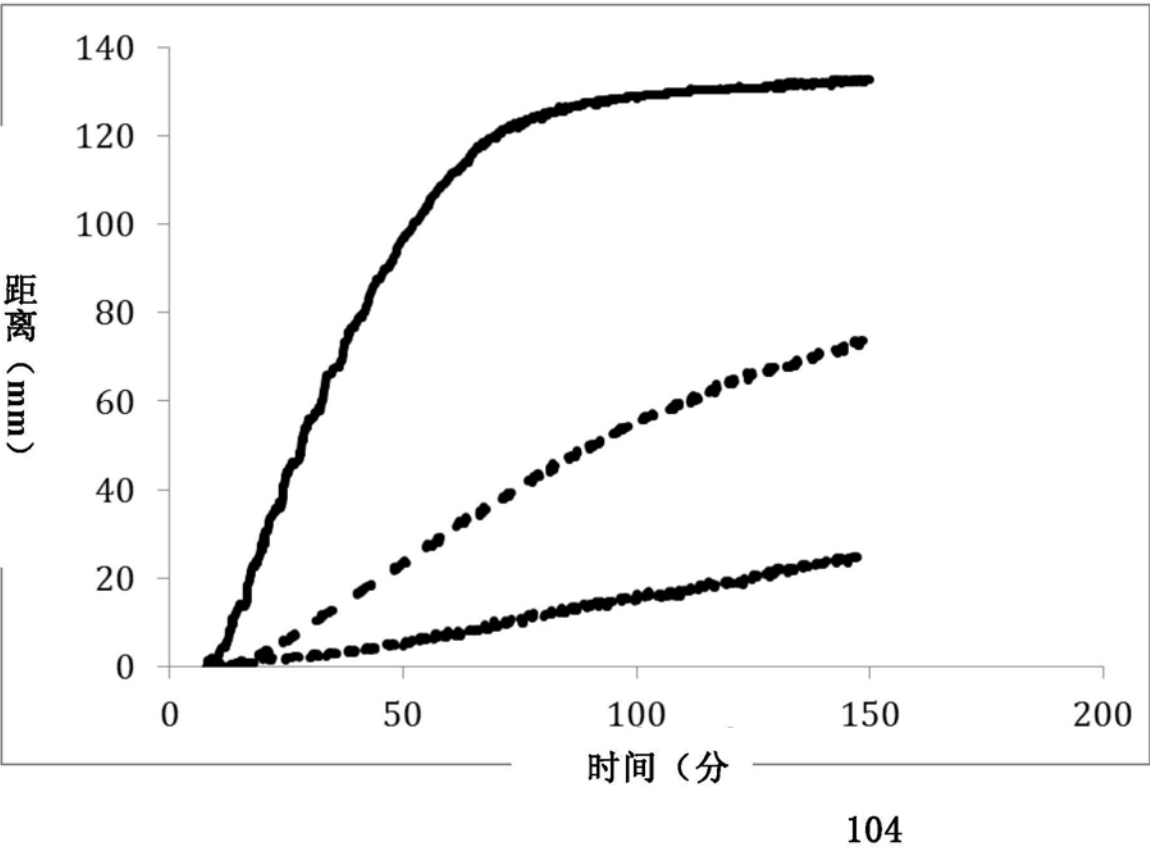


图1

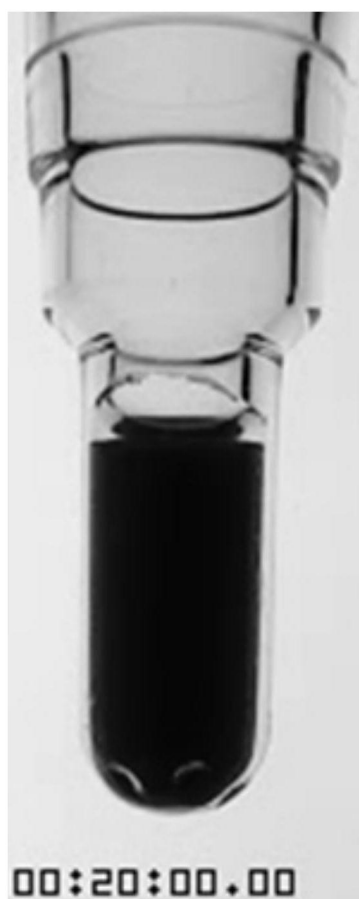


图2A

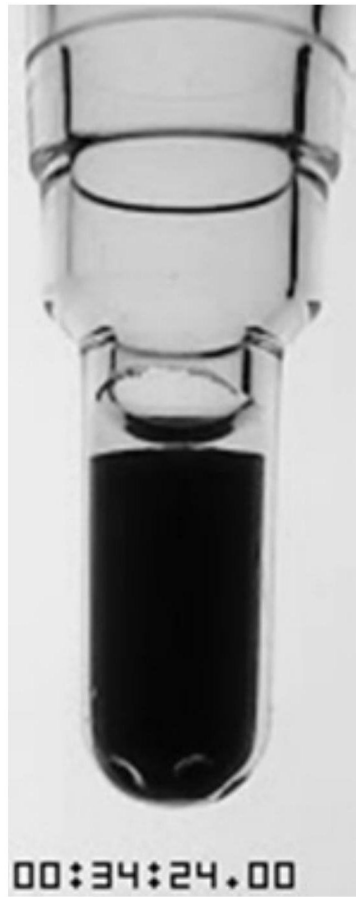


图2B

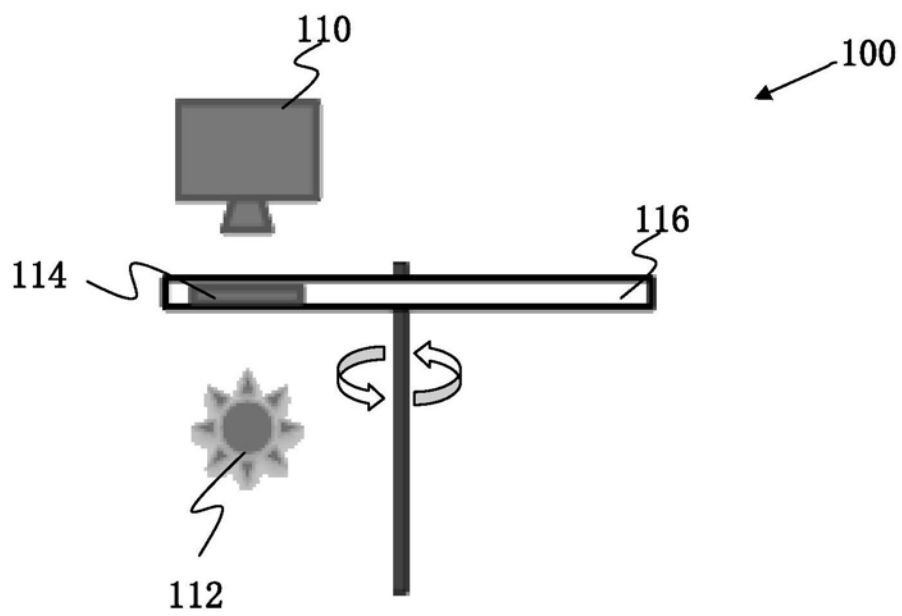


图3

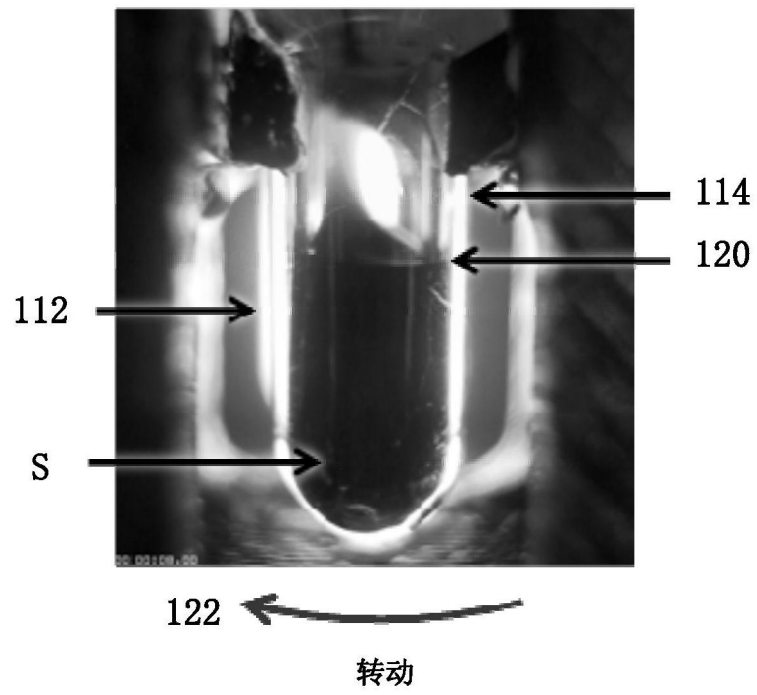


图4

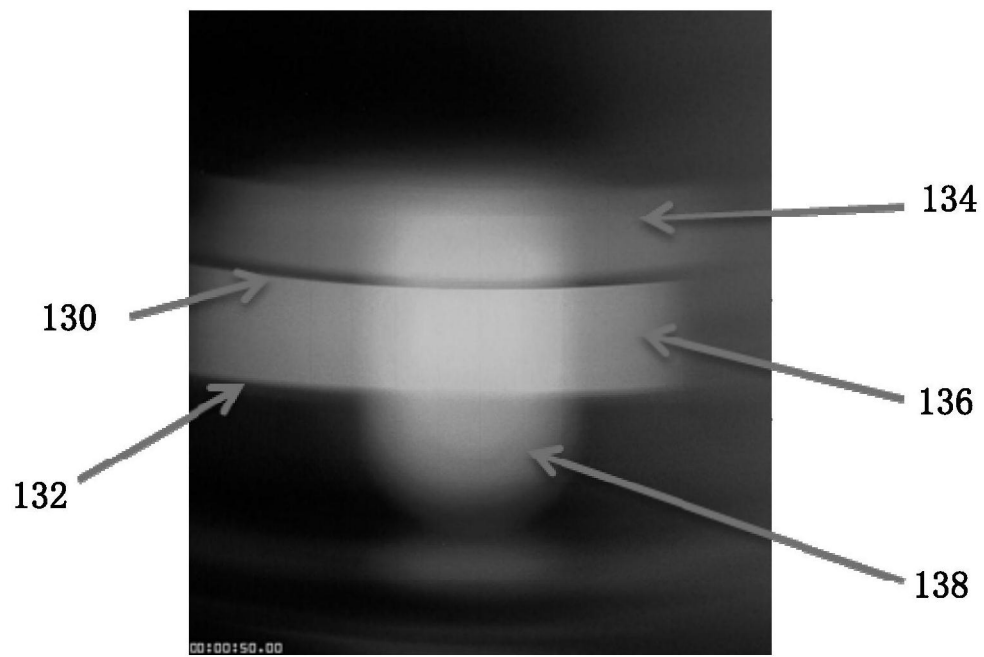


图5

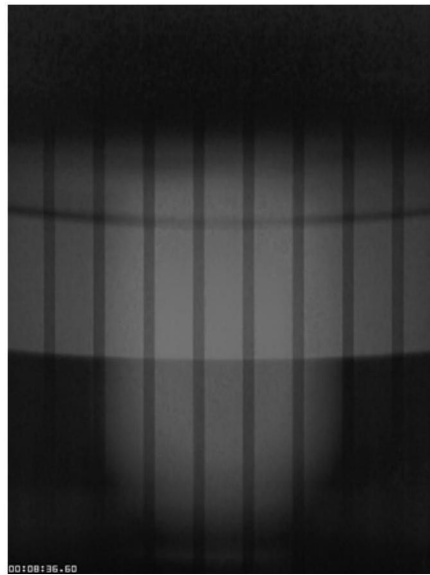


图6A

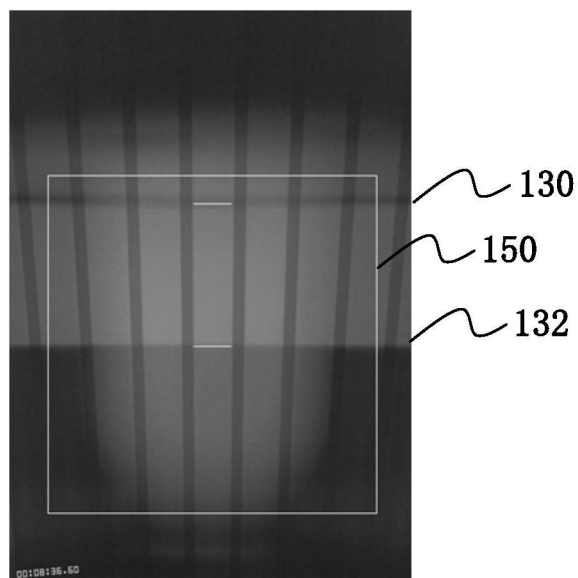


图6B

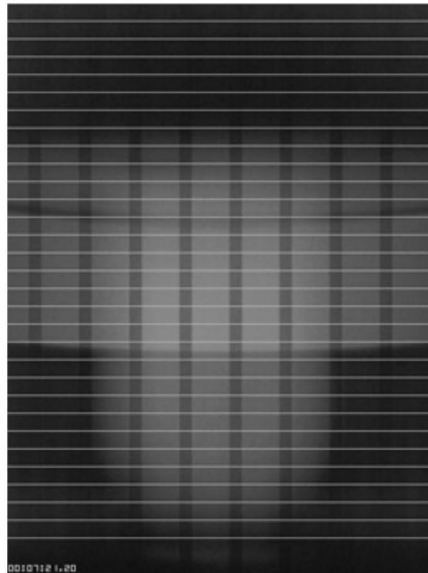


图7A

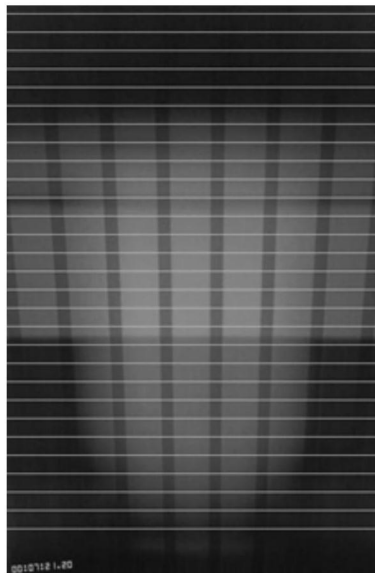


图7B

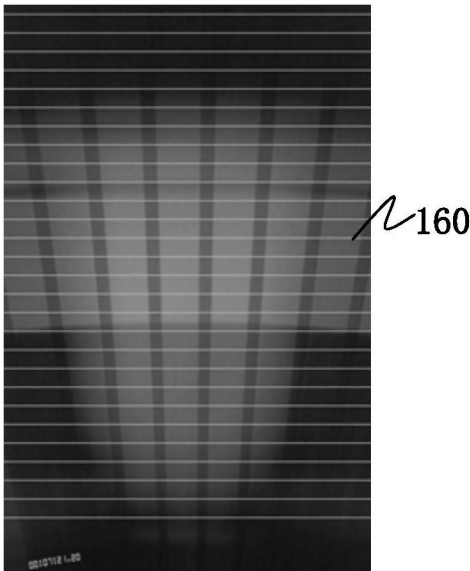


图7C

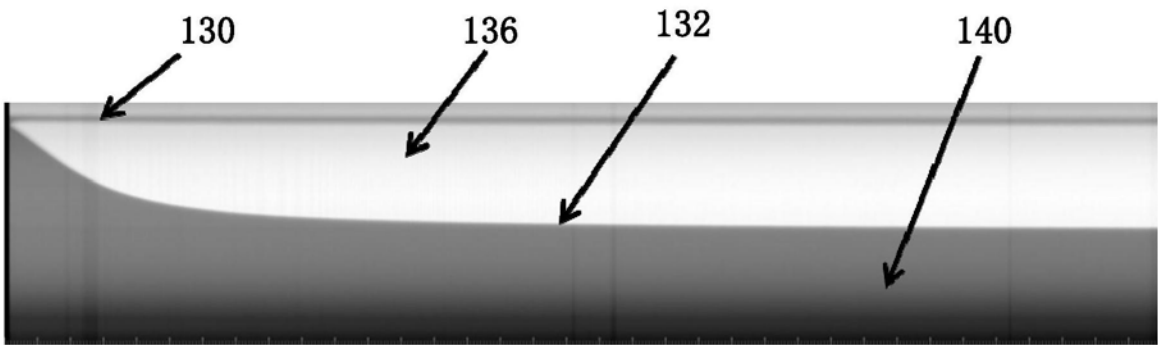


图8A

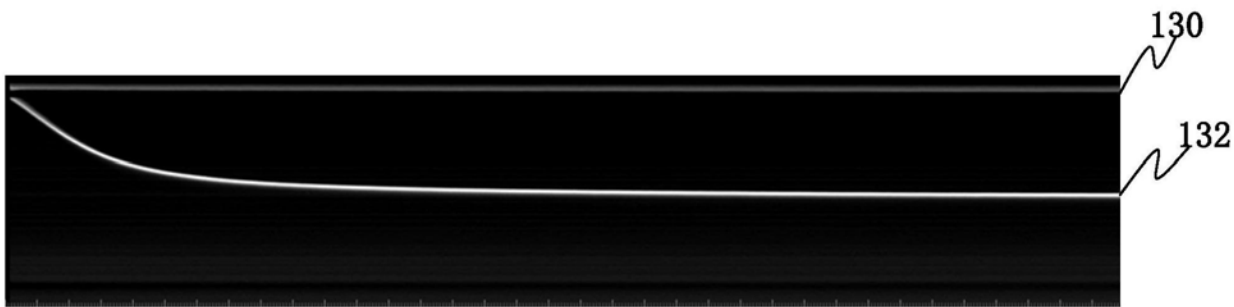


图8B

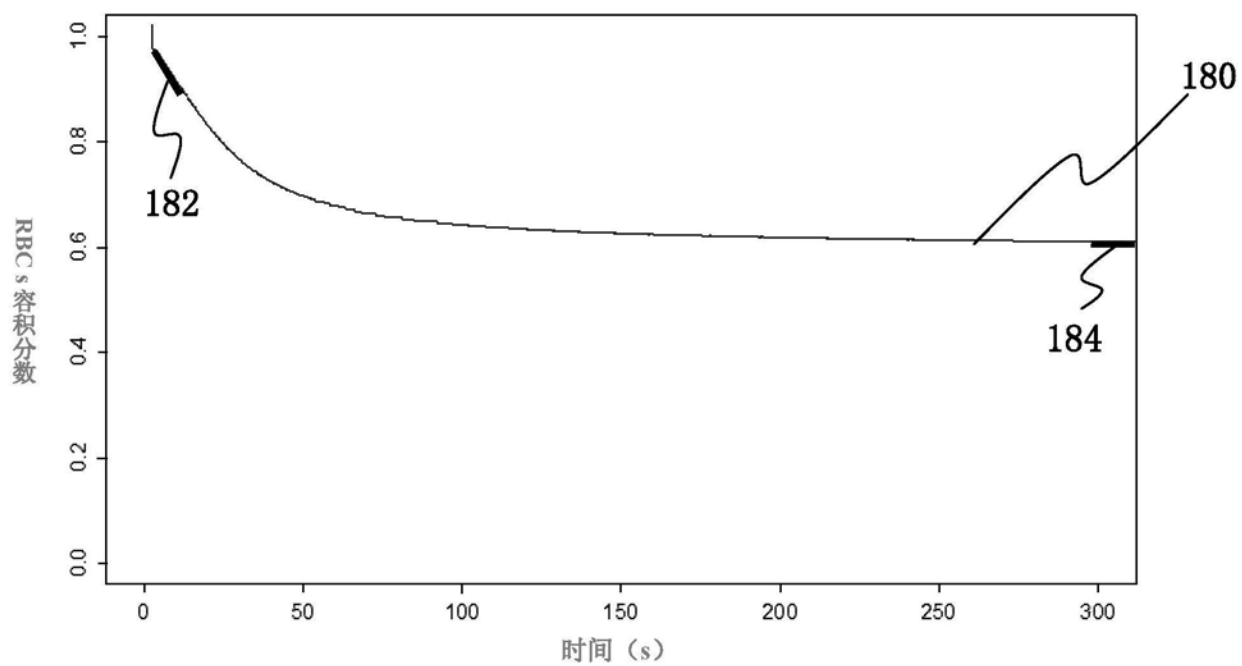


图9

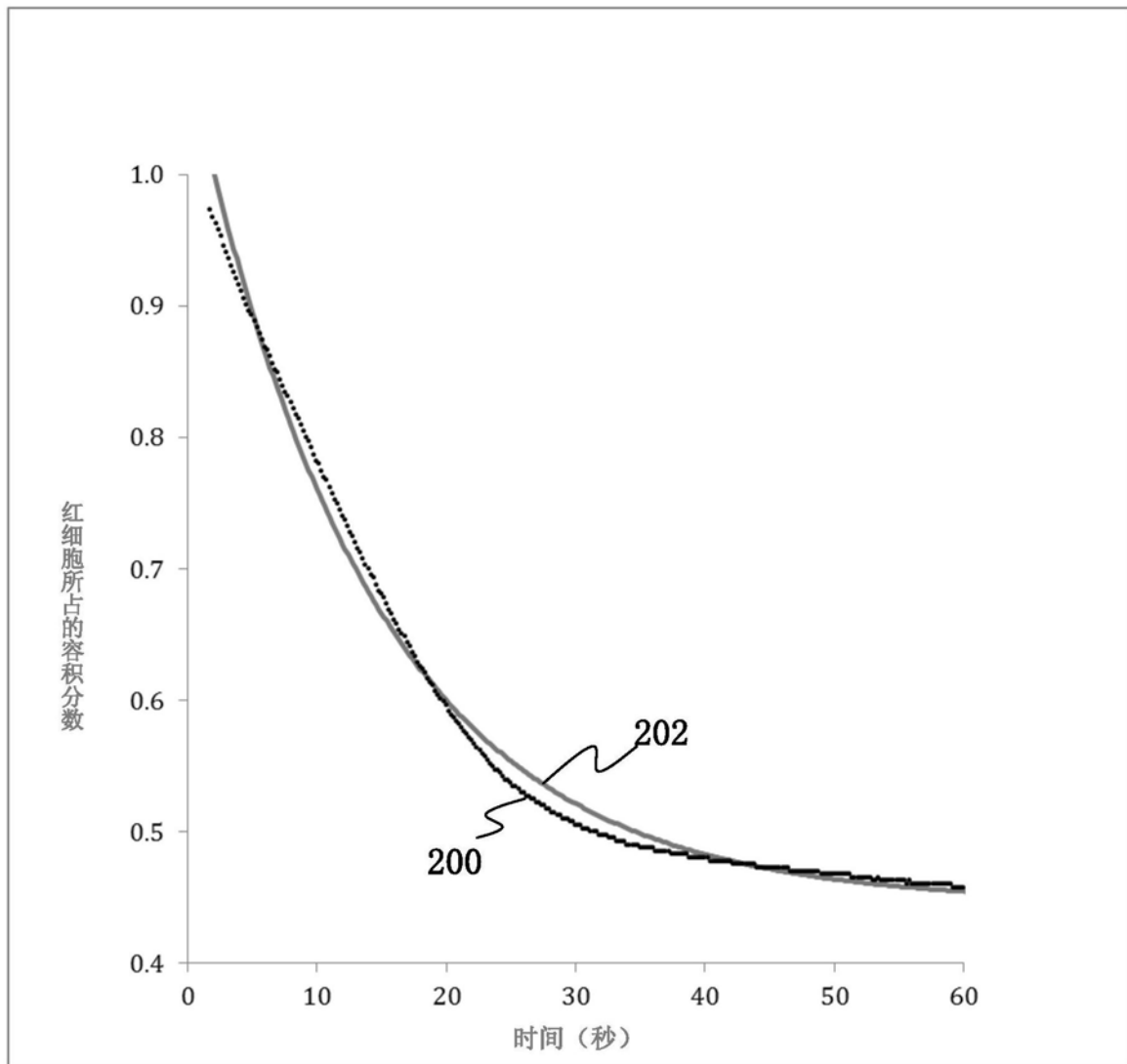


图10A

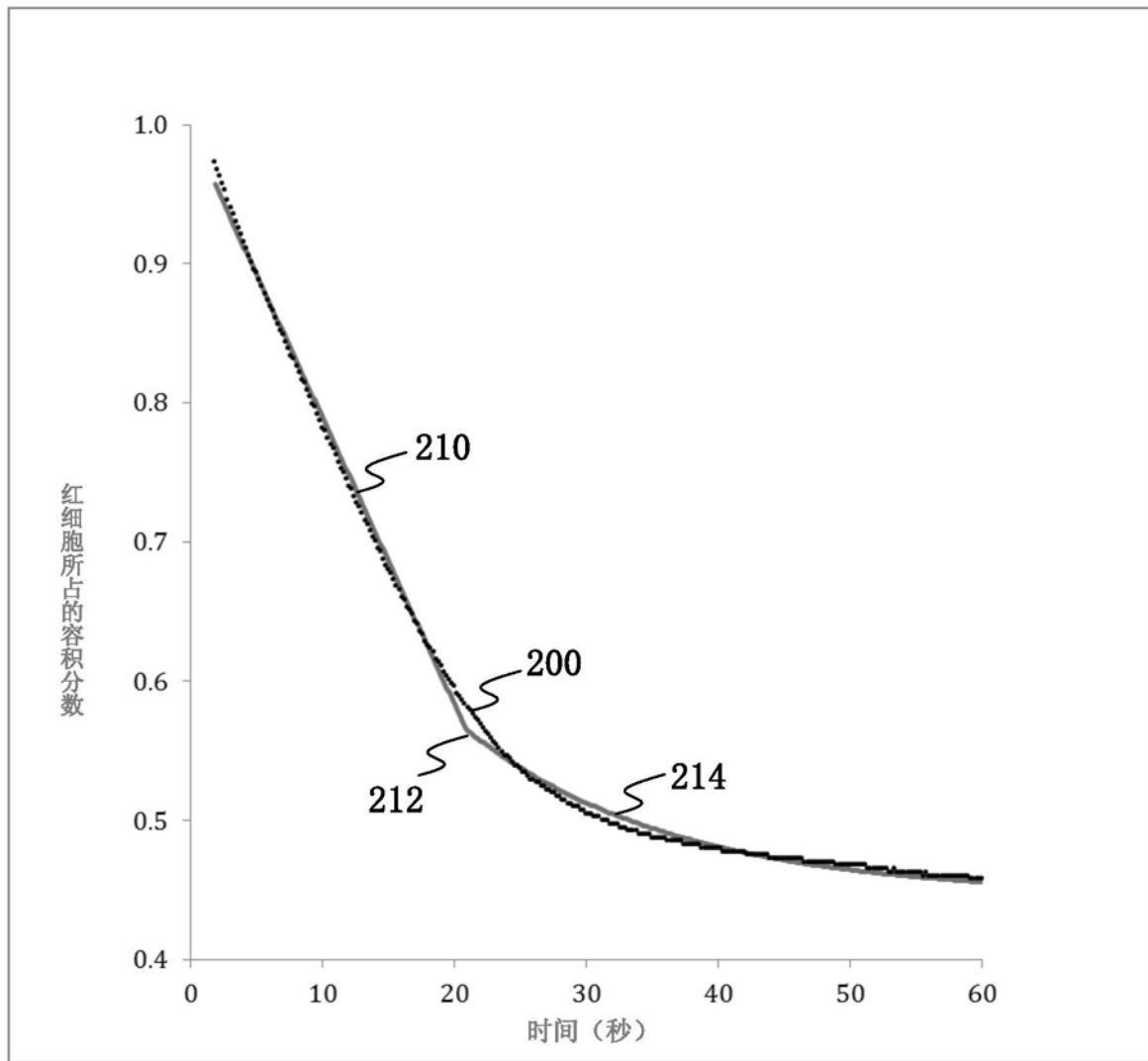


图10B

作为纤维蛋白原函数的 Westergren ESR

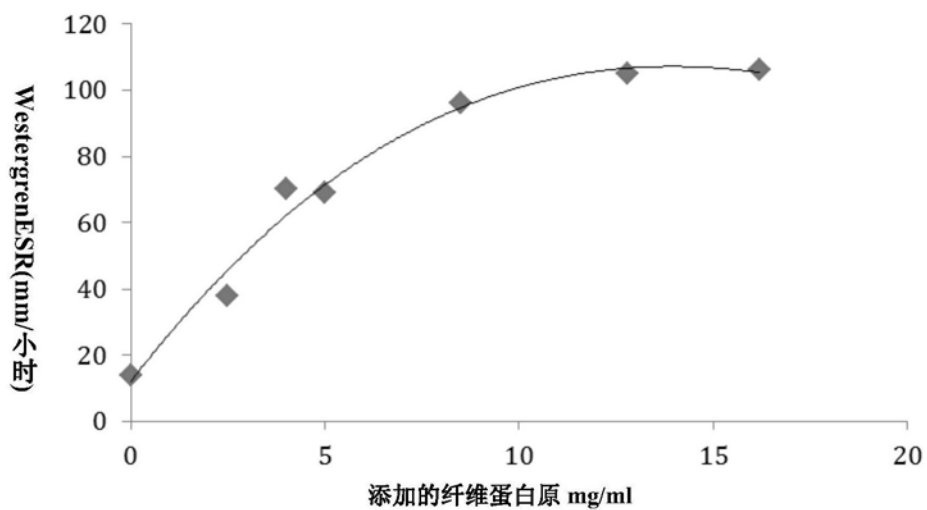


图11

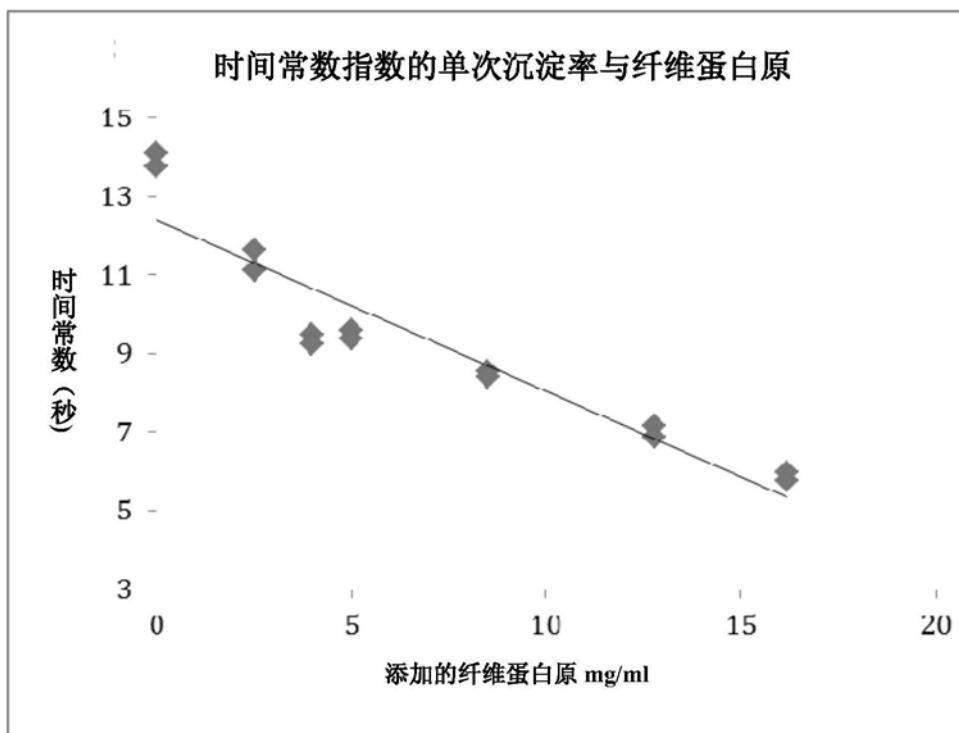


图12

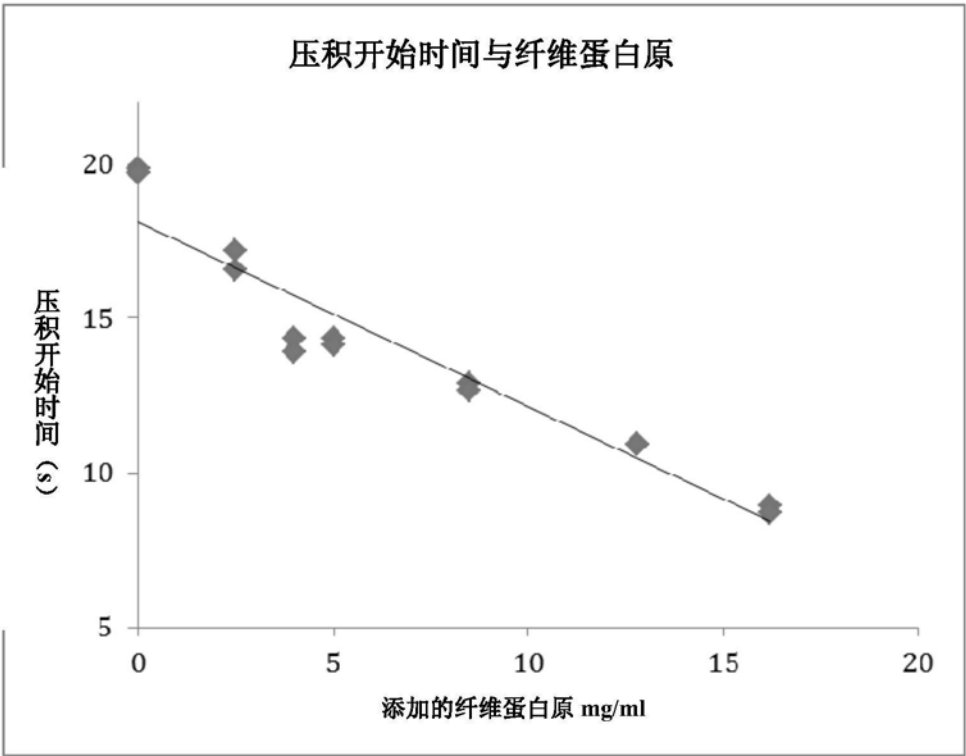


图13

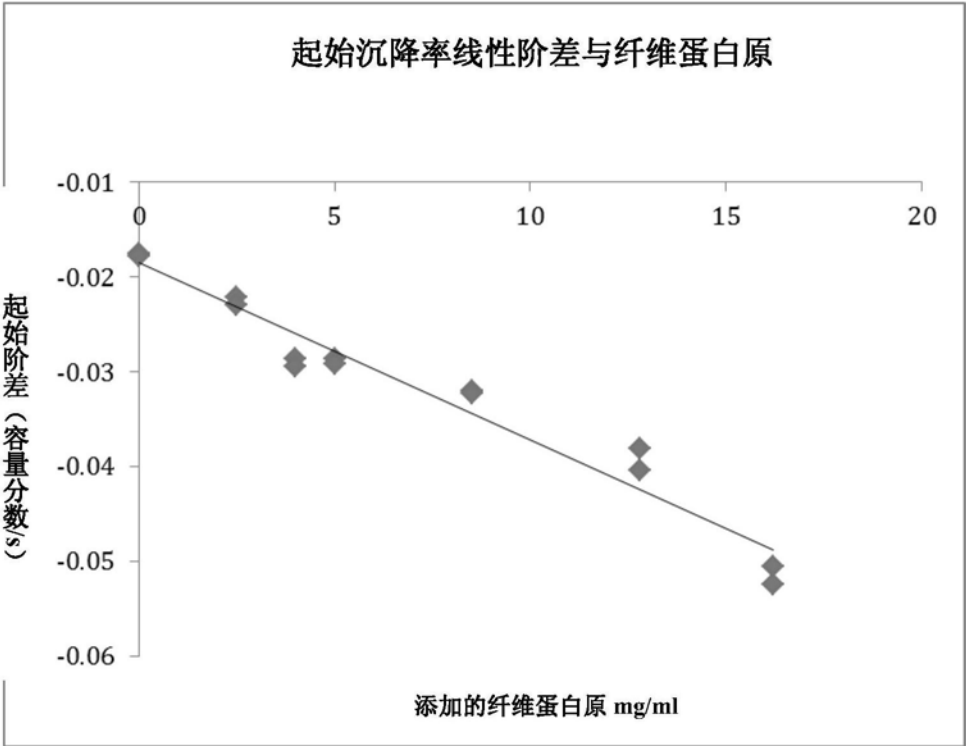


图14

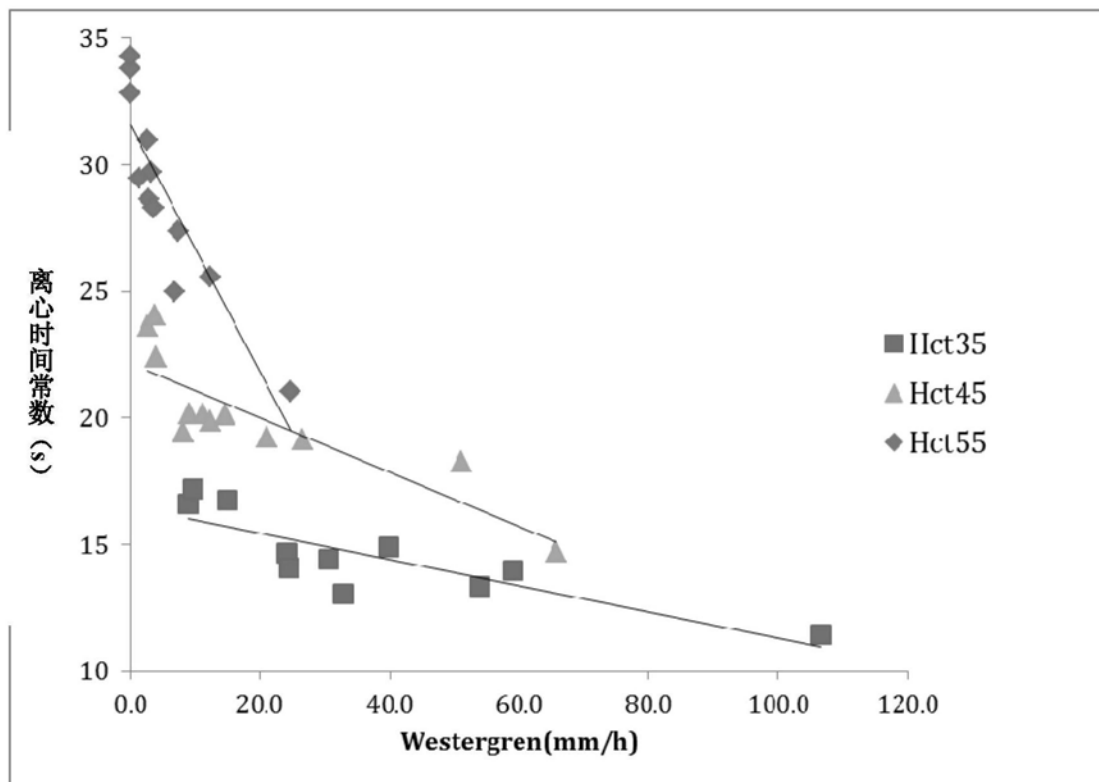


图15

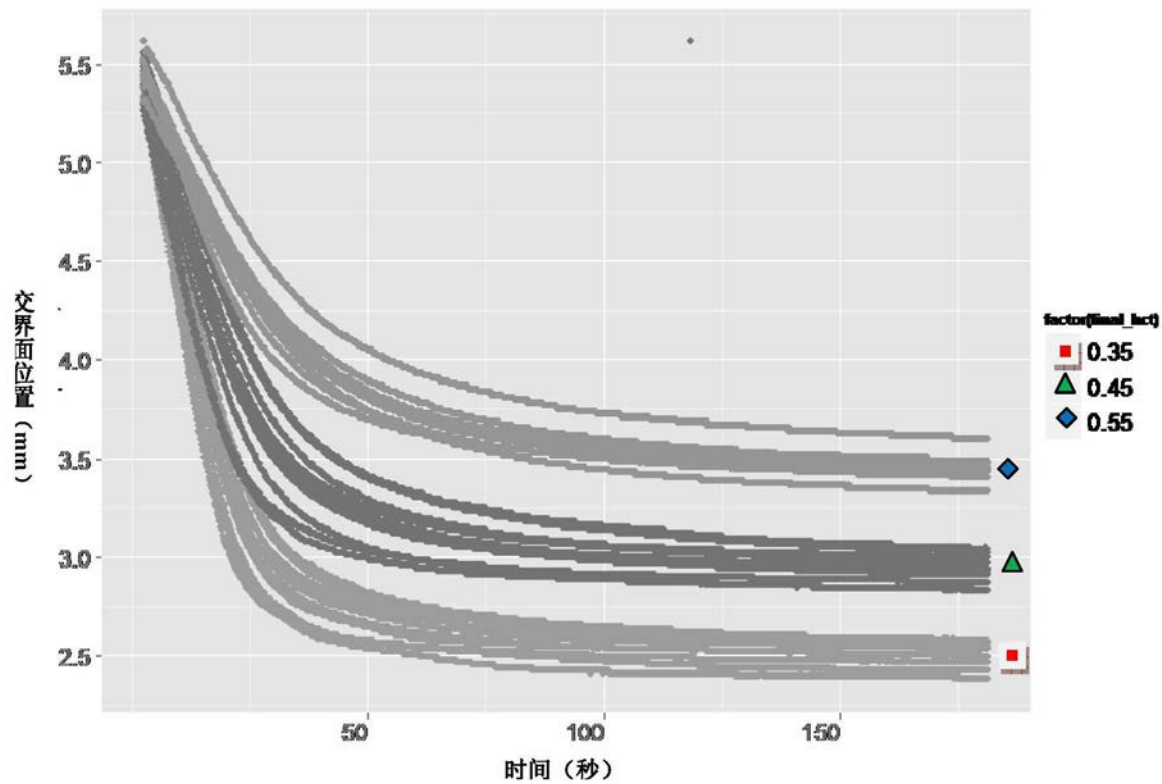


图16

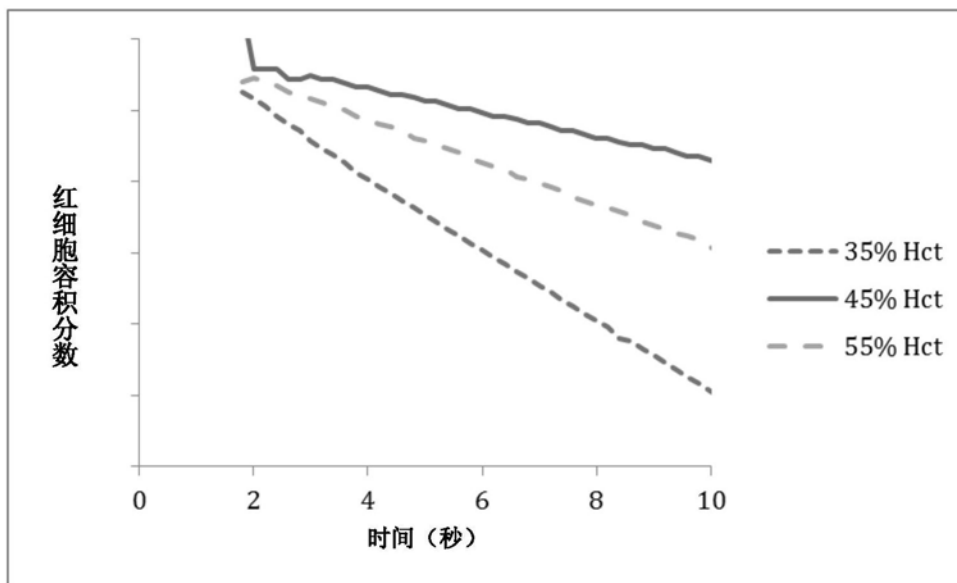


图17

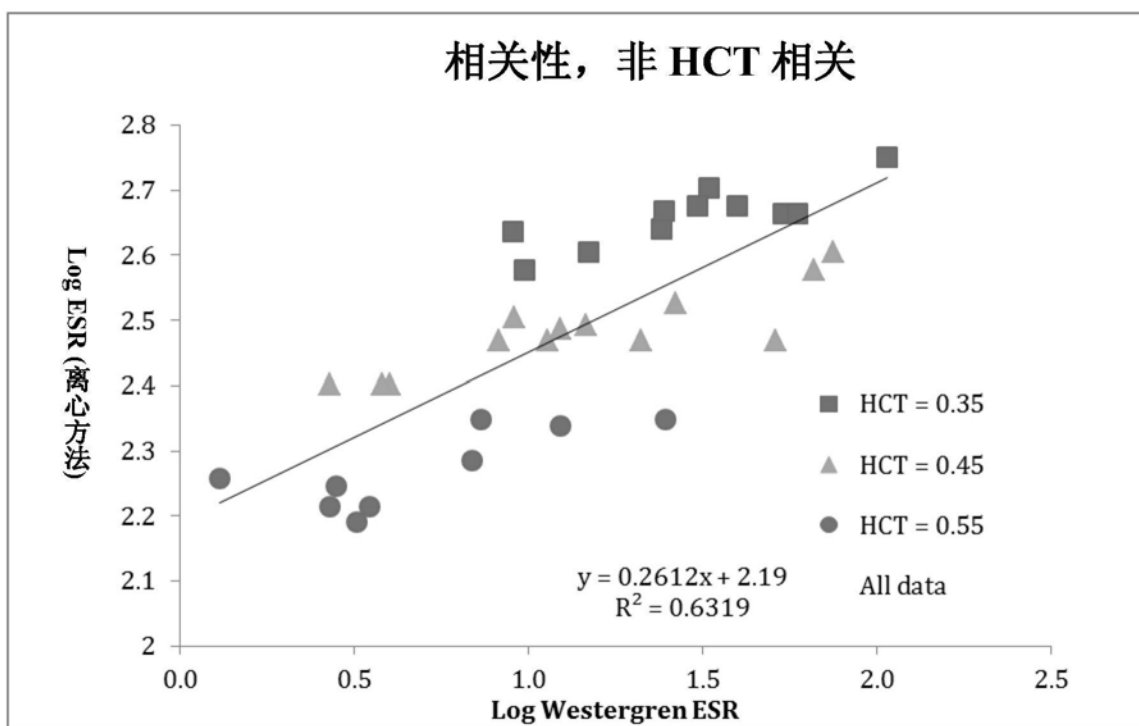


图18A

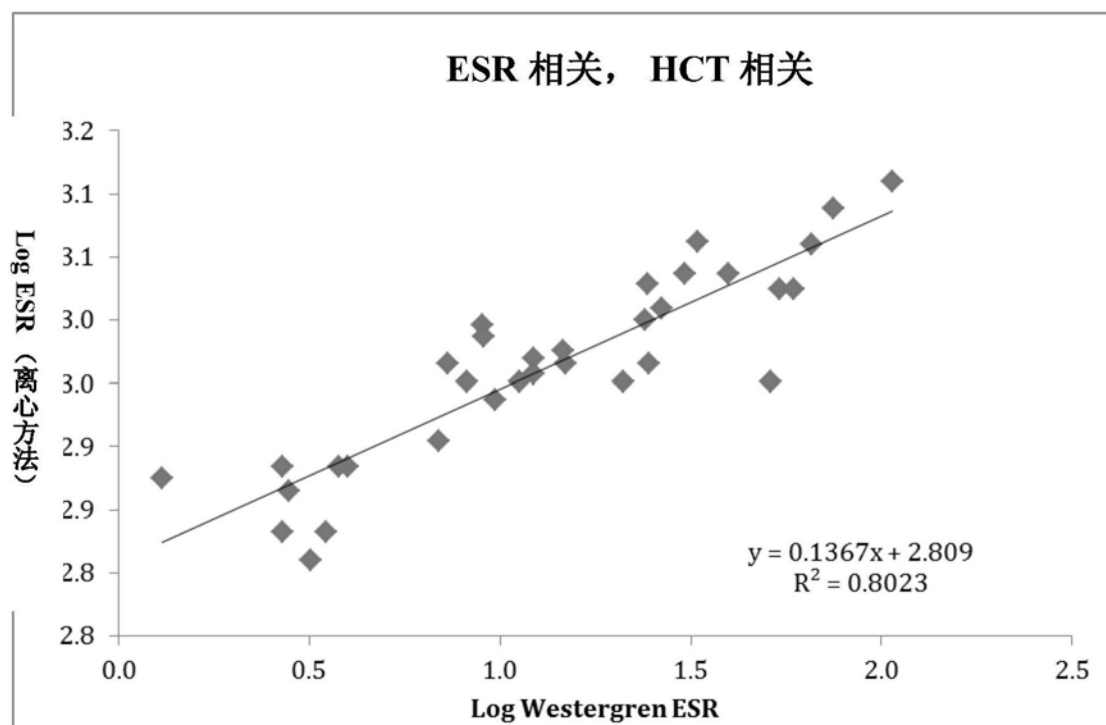


图18B

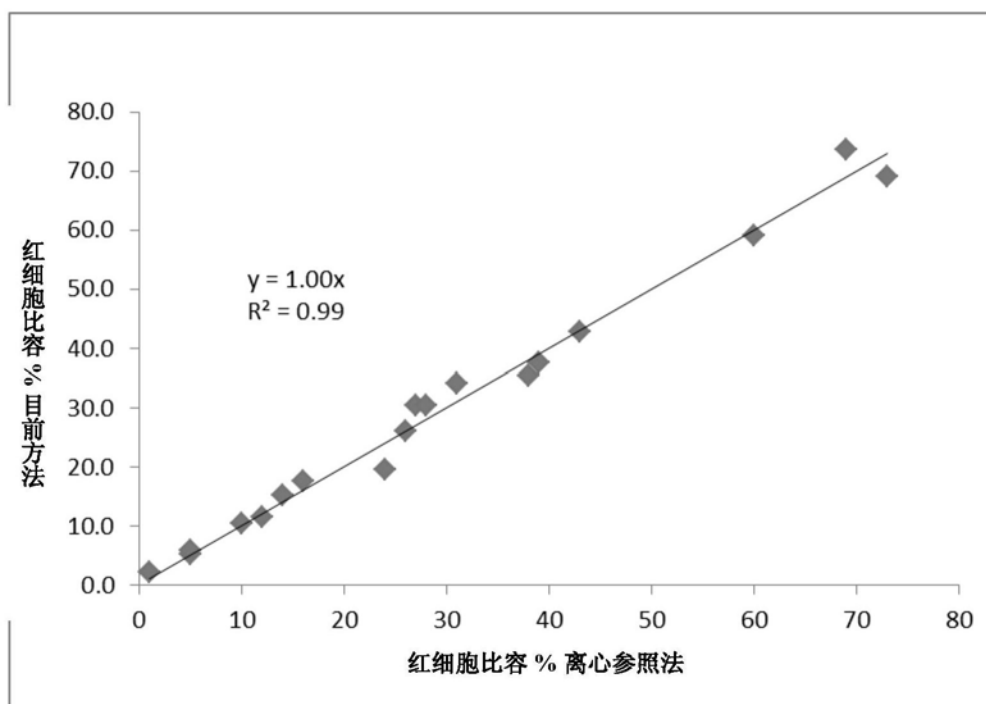


图18C

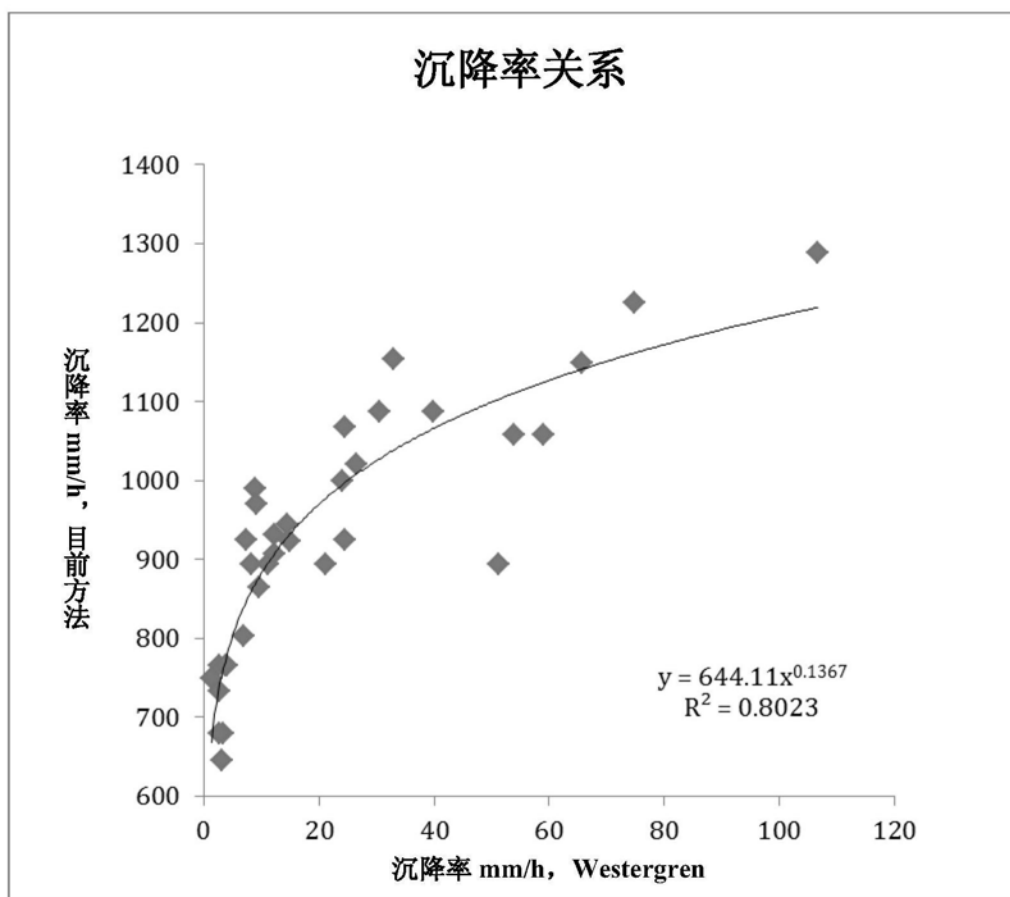


图19

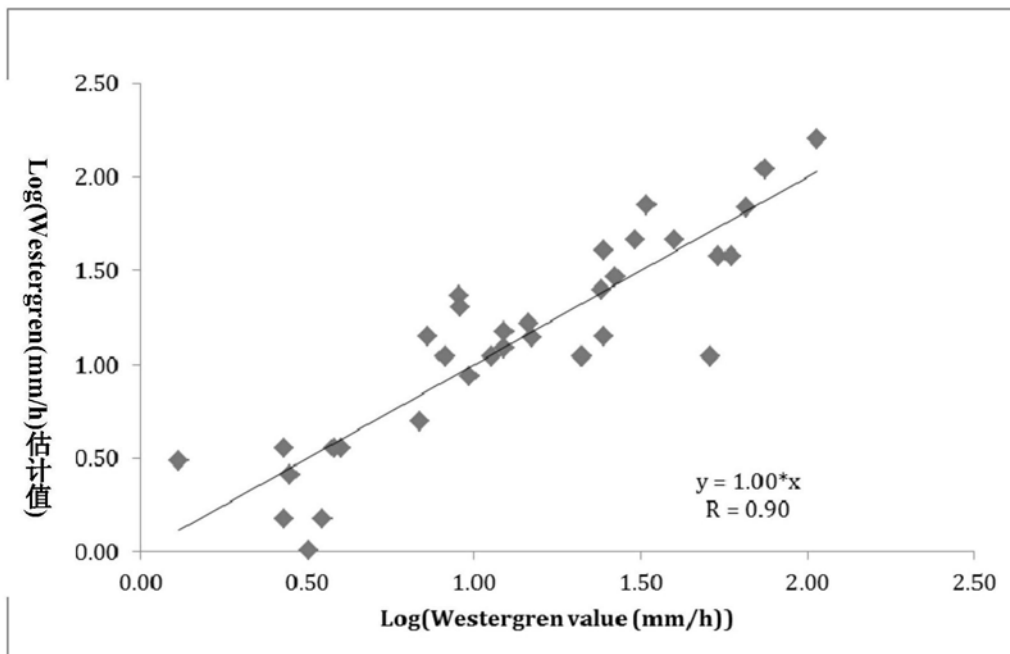


图20

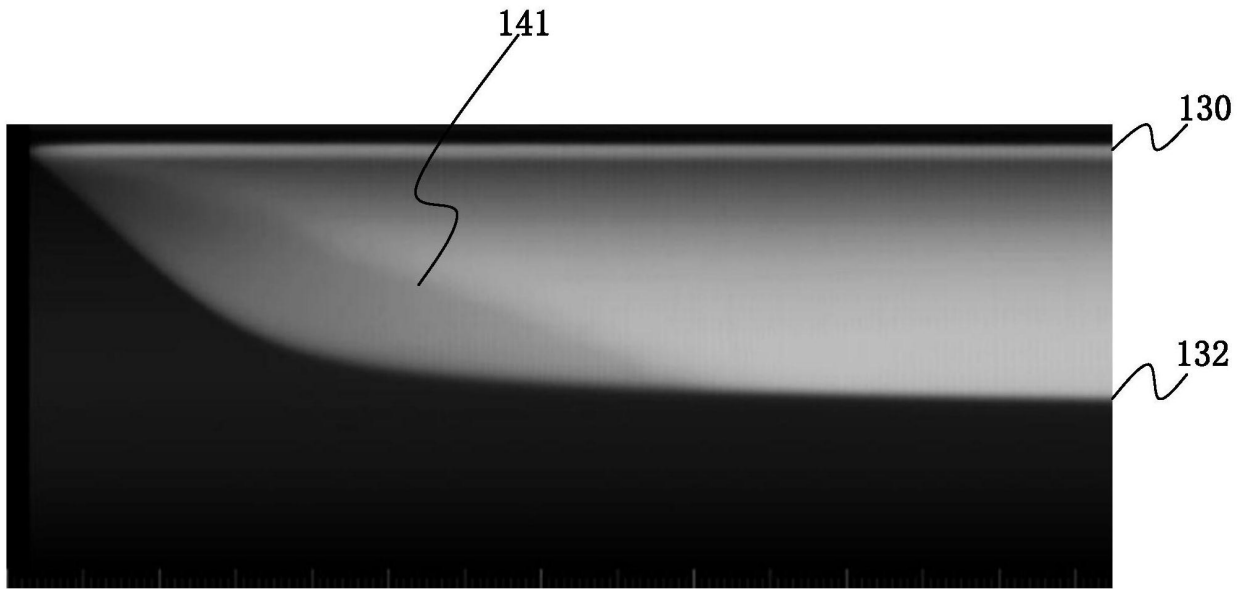


图21

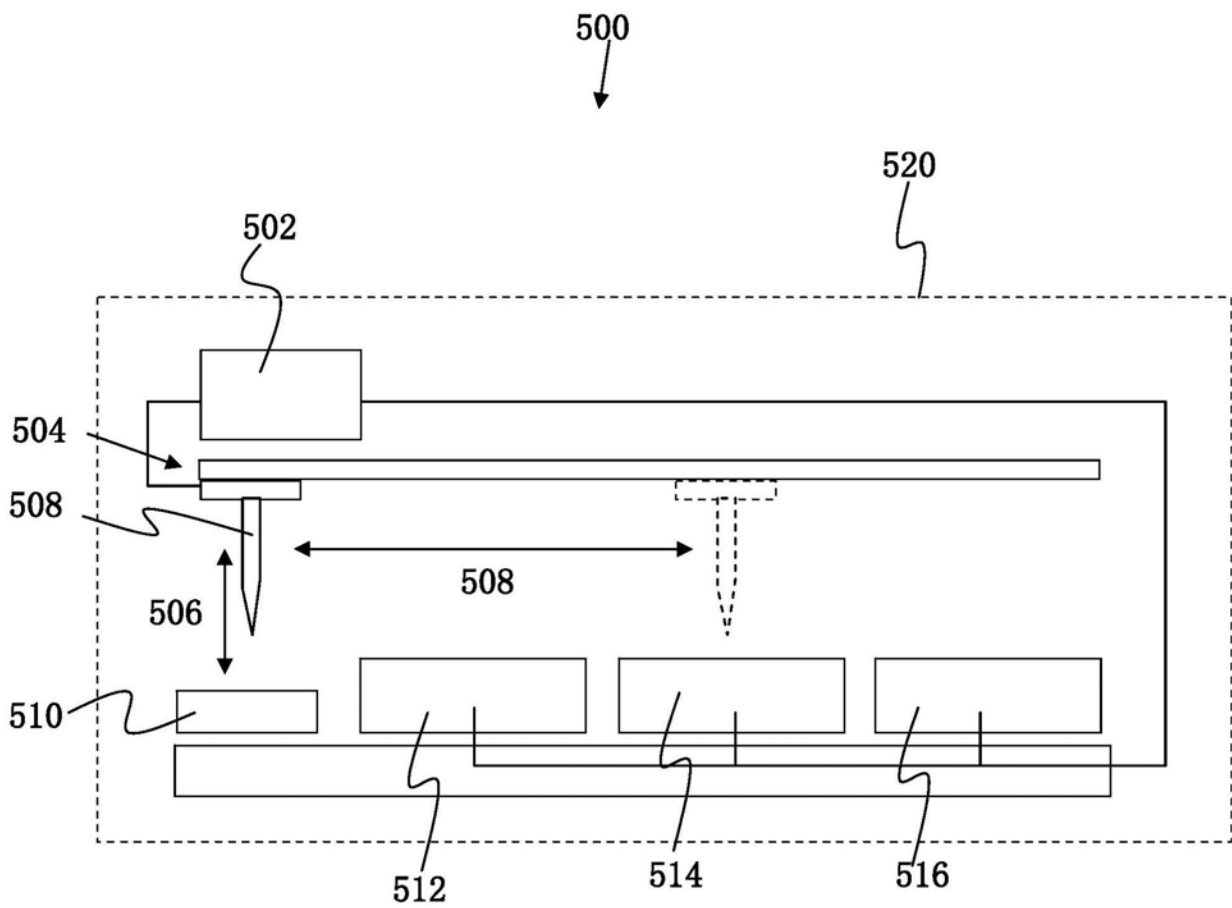


图22