(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103718041 B
(45)授权公告日 2016.06.22

(21)申请号 201280039166.3
(22)申请日 2012.08.09
(30)优先权数据
10-2011-0079497 2011.08.10 KR
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2014.02.10
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/KR2012/006338 2012.08.09
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2013/022284 KO 2013.02.14
(73)专利权人 高丽大学校产学协力团
地址 韩国首尔
(72)发明人 申世铉 南正训 林采承
(74)专利代理机构 广州华进联合专利商标代理有限公司 44224
代理人 黎艳 万志香
(51)Int.Cl.
G01N 33/49(2006.01)
G01N 21/00(2006.01)
G01N 35/08(2006.01)
审查员 于园园

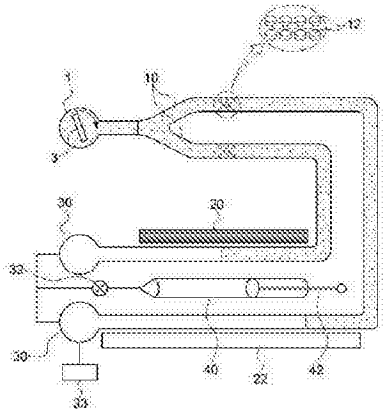
权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54)发明名称

用于测试血小板复合功能的微芯片装置

(57)摘要

在此提供一种微芯片血小板多功能测试装置。该装置包括:样品室,用于将血液样本装载其中;搅拌器,所述搅拌器安装在所述样品室内,并在所述血液样本中引发剪切流动;并行通道,用于将被所述搅拌器搅拌后的血液分流入多个路径中;真空装置,所述真空装置连接在每个所述并行通道的一端,保持恒压,允许搅拌后的血液沿所述并行通道流动;光源,所述光源安装在所述并行通道的后侧,并向所述并行通道辐射光线;以及图像传感器,所述图像传感器接受通过所述并行通道中的血液传递的光线,将所述光线转化为电信号,并测量血流的流动距离。本发明可以在单一测试中测试多种血小板功能,并降低测试时间和测试成本。



CN 103718041 B

1.一种微芯片血小板多功能测试装置,包括:

样品室,用于容纳血液样本;

搅拌器,所述搅拌器安装在所述样品室内,并在所述血液样本中引发剪切流动;

并行通道,用于将被所述搅拌器搅拌后的血液分流入多个路径中;

真空装置,所述真空装置连接在每个所述并行通道的一端,让搅拌后的血液沿所述并行通道流动;

光源,所述光源安装在所述并行通道的后侧,并向所述并行通道照射光线;以及

图像传感器,所述图像传感器接受通过所述并行通道中的血液传递的光线,将所述光线转化为电信号,并测量血流的流动距离;

其中,所述并行通道的前侧安装有(i)多个微柱或(ii)具有多个珠的室,

(i)其中位于每个并行通道中的所述微柱涂有不同试剂;或

(ii)其中所述具有多个珠的室的前表面和后表面中设有直径小于所述珠的通孔,且其中位于每个所述并行通道中的所述珠涂有不同试剂;

其中,所述真空装置包括:

真空室,所述真空室连接在所述并行通道的一端;以及

注射器,所述注射器连接在所述真空室上,且其中可移动地安装了活塞,所述活塞保持所述真空室中的恒压。

2.根据权利要求1所述的装置,其特征在于,所述并行通道的前侧安装有用于降低血流速度的流径突延部分。

3.根据权利要求1所述的装置,其特征在于,所述微柱涂有含胶原质和肾上腺素的试剂或含胶原质和ADP的试剂。

4.根据权利要求1所述的装置,其特征在于,所述珠涂有含胶原质和肾上腺素的试剂或含胶原质和ADP的试剂。

5.根据权利要求1所述的装置,其特征在于,所述真空室和所述注射器之间进一步装有真空阀,所述真空阀用于控制所述并行通道的开合。

6.根据权利要求1所述的装置,其特征在于,所述搅拌器搅拌引发的最小剪切速率是$5000s^{-1}$或以上,或最小剪切力为8Pa或以上。

7.根据权利要求1所述的装置,其特征在于,所述光源是LED阵列且所述图像传感器是CCD传感器。

用于测试血小板复合功能的微芯片装置

【技术领域】

[0001] 本发明涉及一种血小板多功能测试装置，更为具体地说，涉及一种能够对通过微芯片流道设计的少量或大量样本进行自动测试的微芯片血小板多功能测试装置。

【背景技术】

[0002] 血小板功能测试广泛应用于先天性血小板功能障碍的筛查或术前筛查测试，且尤其是一种在非血小板数量失调的出血性疾病中，筛查先天或获得性血小板功能障碍所引起的出血性疾病的重要测试

[0003] 最近，这项血小板功能测试广泛应用于测试一种用于心血管疾病治疗和预防和药物抗性测试的抗血小板药物所导致的出血倾向增加。

[0004] 出血时间(BT)测试是一种约100多年前发明的出血时间测量检验法，至今仍用于检验血小板功能筛查测试。但是，目前使用的血小板功能测试的问题在于难以标准化，临床有效性低，且需要采用有创性方法。因此，需要一种能够测量血小板功能的客观测定法。

[0005] 血小板功能分析仪(例如，PFA-100)是为解决上述问题而设计的技术，用于测定血小板功能，其特征之一是，分析仪中的高剪切速率激活的血管性血友病因子(von Willebrand factor，vWF)令血小板聚集。在为测量这一特性所实施的方法中，令全血在高剪切速率下流入长毛细管，然后利用压力或流量测定封闭时间，即对于涂有胶原质和ADP或肾上腺素的孔口，血小板聚集阻塞孔口的时间。

[0006] 为了执行这个血小板功能测试，还有一个问题，即测试绝对依赖于vWF的功能，要执行一项依赖于血细胞比容(HCT)的测试，并且无法执行抗阿司匹林或抗氯吡格雷测试。此外，为了执行血小板功能测试，两个阶段的测试是必要的，这导致测试成本的增加。

[0007] 特别地，为了激活的vWF，需要将血样在高剪切速率下暴露预定时间或更长时间。为此，PFA-100采用的方法中，血液高速流过一根相对较长的毛细管。然而，该方法的问题在于，需要大量的血液，在具有最大剪切速率的毛细管壁附近的vWF，很容易被激活，但位于具有最小剪切速率的管中心的vWF不被激活。出于这个原因，试验结果的可重复性可能存在问题。

【发明内容】

[0008] 【技术问题】

[0009] 基于上述问题，本发明提供一种微芯片血小板多功能测试装置，其能够通过单一测试实现血小板复合功能的多项测试，降低测试成本，并增加测试可重复性和精确度。

[0010] 本发明还提供一种微芯片血小板多功能测试装置，其构造能够自动测量封闭时间。

[0011] 本发明的技术难题并不限于上述技术难题，本发明的技术人员可以从下文说明中清楚地理解上文中未提及的另一技术难题。

[0012] 【技术方案】

[0013] 本发明的一个方面提供一种微芯片血小板多功能测试装置，该装置可以包括：样品室，用于将血液样本装载其中；搅拌器，所述搅拌器安装在所述样品室内，并在所述血液样本中引发剪切流动；并行通道，用于将被所述搅拌器搅拌后的血液分流入多个路径中；真空装置，所述真空装置连接在每个所述并行通道的一端，保持恒压，允许搅拌后的血液沿所述并行通道流动；光源，所述光源安装在所述并行通道的后侧，并向所述并行通道辐射光线；以及图像传感器，所述图像传感器接受通过所述并行通道中的血液传递的光线，将所述光线转化为电信号，并测量血流的流动距离。

[0014] 本发明的又一方面提供一种微芯片血小板多功能测试装置，该装置可以包括：样品室，用于将血液样本装载其中；搅拌器，所述搅拌器安装在所述样品室内，并在所述血液样本中引发剪切流动；并行通道，用于将被所述搅拌器搅拌后的血液分流入多个路径中；真空装置，所述真空装置连接在每个所述并行通道的一端，保持恒压，允许搅拌后的血液沿所述并行通道流动；真空阀，用于控制所述真空装置和多个并行通道的开合；以及压力传感器，所述压力传感器测定所述并行通道中初始真空压强随时间的降低量。并计算所测量的真空压强不再随时间降低所用的时间。

[0015] 所述并行通道的前侧可以安装用于降低血流速度的流径突延部分。

[0016] 所述并行通道的前侧可以安装多个微柱，所述微柱降低血液流动速度并允许血小板粘附和聚集以执行血小板功能测试。

[0017] 所述微柱可以涂有含胶原质和肾上腺素的试剂或含胶原质和ADP的试剂。

[0018] 位于每个所述并行通道中的所述微柱可以涂有不同试剂。

[0019] 所述并行通道的前侧可以安装有一个含有多个珠的室。

[0020] 所述室的前表面和后表面中可以设有直径小于所述珠的通孔。

[0021] 所述珠可以涂有含胶原质和肾上腺素的试剂或含胶原质和ADP的试剂。

[0022] 位于每个所述并行通道中的所述珠可以涂有不同试剂。

[0023] 所述真空装置可以包括：真空室，所述真空室连接在所述并行通道的一端；以及注射器，所述注射器连接在所述真空室上，且其中可移动地安装了活塞，所述活塞保持所述真空室中的恒压。

[0024] 所述真空室和所述注射器之间可以进一步装有真空阀，所述真空阀用于控制所述并行通道的开合。

[0025] 所述搅拌器搅拌引发的最小剪切速率可以是5000(s^{-1})或以上，或最小剪切力为8Pa或以上。

[0026] 所述光源可以是LED阵列且所述图像传感器是CCD传感器。

[0027] 血液样本注入后，所述真空阀可以开启，令所述真空室中的真空压强与所述并行通道相连接，然后可以立即关闭，由此每个所述并行通道的初始真空压强可以随所述血液样本的流动而降低。

[0028] 【有益效果】

[0029] 本发明中，血液在高剪切速率下搅拌后，被注入并行通道中，在每个通道中设置不同试剂以实施测试。因此，可能通过单一测试来实施血小板复合功能的多项测试，并降低测试时间和测试成本。

[0030] 本发明中，用图像传感器和安装在并行通道后侧的光源来测量血流的流动距离，

用注射器来保持恒压，由此可能容易地测定封闭时间。

[0031] 此外，通过在相对均匀的剪切流动域中以预定时间或更长时间施加剪切力，来均匀活化血液样本中含有的vWF。因此，可能得以提高血小板聚集现象的可重复性。

【附图说明】

[0032] 图1为本发明的一个实施例中，微芯片血小板多功能测试装置的结构的图解。

[0033] 图2是本发明的微芯片血小板多功能测试装置的具有多个珠的室的结构图解。

【具体实施方式】

[0034] 下面，将结合附图来对本发明的一个实施例中的微芯片血小板多功能测试装置进行详细描述。

[0035] 图1为本发明的一个实施例中，微芯片血小板多功能测试装置的结构图解。

[0036] 如图所示，本发明所述的微芯片血小板多功能测试装置包括装载样本的样品室1。样品室1的构造形式大致为圆形室。样品室1的尺寸可以根据其目的制成各种大小。另外，优选地，样品室1制作成透光的，以便于从外面观察。

[0037] 然后，将搅拌器3安装在样品室1中。搅拌器3的形状可以是圆棒或圆碟。可选地，搅拌器3可以是上述以外的形状。优选地，搅拌器3的直径或厚度是样品室1的深度的约一半大小。搅拌器3的适宜长度或直径为样品室1的直径的约80％-90％。在此情况下，优选地，由搅拌器3转动引发的最低剪切速率是5000(s^{-1})或以上，或最低剪切力为8Pa或以上。此外，优选地，血液样本在剪切流动域中的暴露时间为至少30秒或以上。这一措施是为了利用剪切速率充分活化vWF。

[0038] 搅拌器3以适当速率实施旋转运动，以在注入样品室1的血液样本中引发高剪切流动，活化血液中的vWF，令血小板贴附并聚集到一个涂有适当试剂的部分。搅拌器3可以由薄金属材料制成，在分开安装的搅拌诱导装置(未显示)的磁力下磁化，该影响无需机械连接。此外，搅拌器3可以具有棒状或管状形状，如图1所示，或可以制成圆碟、具有微小坡度和厚度的圆锥形，或珠形。

[0039] 同时，从样品室1流出的血液样本分流入具有多个路径的并行通道10。虽然并行通道10在图1中显示为2条通道，本发明并不限于此，而是可以令该并行通道分支构建为3条或以上通道。本实施例中的并行通道结构是为了通过在每条通道上涂抹不同类型的试剂，同时执行血液样本的多功能测试。此外，还可能通过单一测试，对多项血小板功能进行详细、精确的测试，并降低测试成本和测试时间。

[0040] 微柱12上可以涂有含胶原质和肾上腺素的试剂，或含胶原质和ADP的试剂。例如，如图1所示的并行通道10中，上通道可以涂有胶原质和肾上腺素的混合物，而下通道可以涂有胶原质和ADP的混合物。该试剂可以涂于通道壁或下面将要描述的珠54表面或微柱12的表面。

[0041] 并行通道10中安装了多个突出的微柱12，优选地，该微柱12安装在并行通道10的前端。微柱12涂有上述试剂，以涂层部分增加血小板接触面积，并降低血流量。即是说，构建了一个令液流横截面在其中受到阻碍的结构部分，以令血小板按照这样一个部段平稳地粘附到具有扩展试剂涂层部分的接触面上，在该部段中，受高剪切流动活化后的vWF与血小板

反应，从而使流量降低。

[0042] 同时，不一定只能通过采用微柱12实现上述功能。如图2所示，在并行通道10中，可以在安装微柱12的位置安装分离室50。室50的形状大致为长方体，其中设有允许血液经过的空间。

[0043] 此外，室50的前表面和后表面中设有通孔52，供血液流入流出。室50内部设有直径大于通孔52的多个珠54。珠54上涂有试剂，例如胶原质和肾上腺素的混合物，以涂层部分增加血小板接触面积，如在微柱12中般减少血流。

[0044] 同时，虽未具体示出，可以在并行通道10的前侧安装一个流径的突延部分，用于减少血流，即安装有微柱12或室50的部分的前侧。

[0045] 用于向并行通道10辐射光线的光源20安装在并行通道10的后侧。图像传感器22安装在光源20的相对端，并行通道10在其之间。图像传感器22接受光源20辐射的光线，将光线转化为电信号，并实时测量血流的流动距离。即是说，光源20辐射的光线经过流入并行通道10的血液，被图像传感器22所接受，在并行通道中充入血液时，图像传感器22所接收到的光量减少，因此，以该减少量来测量血流的流动距离。

[0046] 以此方式，当血流的流动距离得到测量时，也可能测量血小板的封闭时间。例如，若降至低于初始光通量的10％的光通量持续3秒钟或以上时，该时间可以作为封闭时间。

[0047] 同时，LED阵列等诸如此类可以用作光源20，且CCD传感器可以用作图像传感器22。

[0048] 然后，并行通道10的一端安装有真空装置，用于保持并行通道内部的恒压。该真空装置包括与并行通道10的端部相连接的真空室30和用于保持真空室30中恒压的注射器40。在此，真空阀32设在真空室30和注射器40之间，活塞42可移动地安装在注射器40中，以实施真空抽吸操作。真空阀32控制真空装置和多个并行通道10的开合。

[0049] 即是说，活塞42在注射器40内向后移动到使血流开始的位置以保持定额真空。当真空阀打开时，测量降低中的压强，并根据减压的程度收缩注射器40，由此保持注射器和相连管道中的恒压。在此情况下，与PFA-100不同，本发明的样品流速无需快速流动。因此，样本以适当的速率流动，且可以提供流动所需的定额真空。

[0050] 即是说，与采用毛细管急速剪切流动活化vWF的方法的PFA-100相比，本发明中无需急流，因为vWF已在样品室中通过剪切流动发生装置进行了活化。

[0051] 同时，真空室30的一侧连接有压力传感器33，用于测量真空装置中随时间而降低的压力。

[0052] 此外，在真空装置中，并行通道10连接在具有恒定真空压强的真空室30上。当活塞42固定时，血液样本在真空压强的作用下流入并行通道10，压强相应地逐渐降低。即是说，注入血液样本后，真空阀32开启，令真空室30的真空压强与并行通道10相连接，然后立即关闭。因此，每个并行通道10的初始真空压强随血液样本的流动而降低。由此一来，当真空装置中的压强随时间降低，直至压强不再变化的时间点，则该时间点可以作为封闭时间。

[0053] 下面将对本发明具有上述结构的血小板多功能测试方法进行详细描述。

[0054] 首先，检验员将以静脉穿刺术手机的血液样本注入样品室1中。然后，启动安装在样品室1中的搅拌器3.在此，对血液样本的搅拌可以通过以预定速度转动预定时间来实施。该搅拌令vWF得到活化。

[0055] 然后，血液样本流入并行通道10的不同路径中。在此，活化的vWF贴附于涂抹在微

柱12或珠54上的试剂|(胶原质和肾上腺素的混合物,或胶原质和ADP的混合物),成为粘附血小板的基础。以此方式下,采用在每个并行通道10上涂抹不同试剂,可能实施多种血小板功能的详细、精确测试。

[0056] 同时,血流在并行通道10中的流动距离可以用光源20和图像传感器22来测量。即是说,光源20辐射出的光线通过并行通道10中的血液,被图像传感器22接受,在图像传感器22中转化为电信号,由此对血液的流动距离进行实时测量。在上述测量过程中,当光通量降至初始光通量的10%以下并保持3秒钟或以上时,该时间可以被定义为封闭时间。在此情况下,注射器40的活塞42根据血流进行收缩,以恒压对其进行控制,计算光通量,并由此测定封闭时间。

[0057] 本发明的保护范围并不限于上述的一个或多个实施例,而如下权利要求所述。对本领域的技术人员来说,显而易见,还可以在所述权利要求的范围内对其修改和改造。

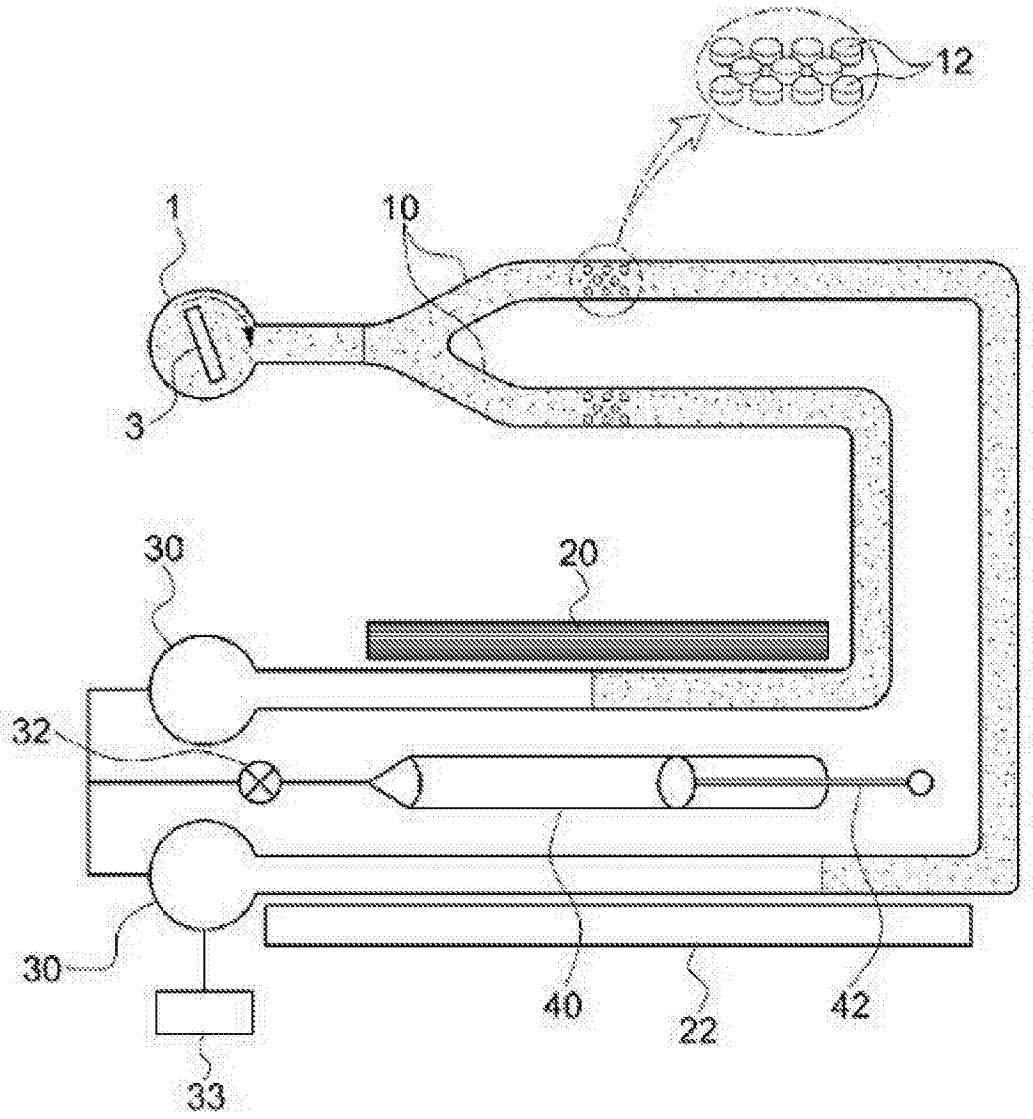


图1

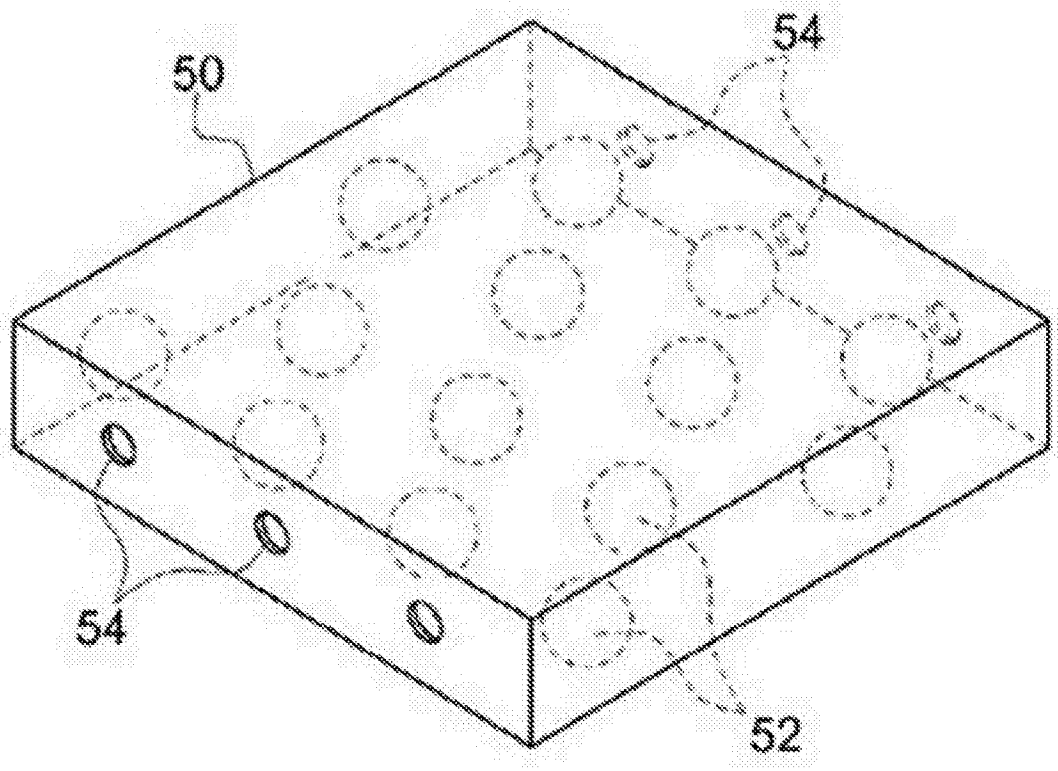


图2