

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2013 年 5 月 10 日 (10.05.2013)



(10) 国际公布号
WO 2013/064078 A1

- (51) 国际专利分类号:
G01N 21/49 (2006.01) G01N 33/49 (2006.01)
G01N 21/64 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2012/083864
- (22) 国际申请日: 2012 年 10 月 31 日 (31.10.2012)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201110337707.8 2011 年 10 月 31 日 (31.10.2011) CN
- (71) 申请人: 深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司
(SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路迈瑞大厦, Guangdong 518057 (CN)。

- (72) 发明人: 叶波 (YE, Bo); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路迈瑞大厦, Guangdong 518057 (CN)。 钱程 (QIAN, Cheng); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路迈瑞大厦, Guangdong 518057 (CN)。 祁欢 (QI, Huan); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路迈瑞大厦, Guangdong 518057 (CN)。
- (74) 代理人: 广州华进联合专利商标代理有限公司 (ADVANCE CHINA I.P. LAW OFFICE); 中国广东省广州市先烈中路 69 号东山广场 918-920 室, Guangdong 510095 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

[见续页]

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR RECOGNIZING PLASMODIUM-INFECTED ERYTHROCYTE

(54) 发明名称: 疟原虫感染的红细胞的识别方法及装置

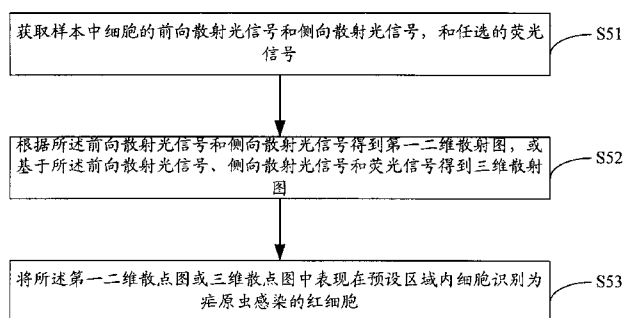


图 5 / FIG. 5

- S51 OBTAIN A FORWARD SCATTERED LIGHT SIGNAL AND A SIDE SCATTERED LIGHT SIGNAL OF A CELL IN A SAMPLE, AND A RANDOMLY SELECTED FLUORESCENCE SIGNAL
- S52 OBTAIN A FIRST 2D SCATTER DIAGRAM ACCORDING TO THE FORWARD SCATTERED LIGHT SIGNAL AND THE SIDE SCATTERED LIGHT SIGNAL, OR OBTAIN A 3D SCATTER DIAGRAM BASED ON THE FORWARD SCATTERED LIGHT SIGNAL, THE SIDE SCATTERED LIGHT SIGNAL AND THE FLUORESCENCE SIGNAL
- S53 RECOGNIZE A CELL DEMONSTRATED IN A PRESET AREA IN THE FIRST 2D SCATTER DIAGRAM OR THE 3D SCATTER DIAGRAM AS A PLASMODIUM-INFECTED ERYTHROCYTE

(57) Abstract: A method for recognizing a plasmodium-infected erythrocyte comprises: obtaining a forward scattered light signal and a side scattered light signal of a cell in a sample, and a randomly selected fluorescence signal; obtaining a first 2D scatter diagram according to the forward scattered light signal and the side scattered light signal, or obtaining a 3D scatter diagram based on the forward scattered light signal, the side scattered light signal and the fluorescence signal; and recognizing a cell demonstrated in a preset area in the first 2D scatter diagram or the 3D scatter diagram as a plasmodium-infected erythrocyte. Also provided is a device for recognizing a plasmodium-infected erythrocyte. The method and device are both advantageous in having high recognition precision.

(57) 摘要: 一种疟原虫感染的红细胞的识别方法, 其包括: 获取样本中细胞的前向散射光信号和侧向散射光信号, 和任选的荧光信号; 根据前向散射光信号和侧向散射光信号得到第一二维散点图, 或基于前向散射光信号、侧向散射光信号和荧光信号得到三维散点图; 将第一二维散点图或三维散点图中表现在预设区域内细胞识别为疟原虫感染的红细胞。还提供了一种疟原虫感染的红细胞的识别装置。上述方法和装置具有识别精

度高的优点。

WO 2013/064078 A1



(84) **指定国** (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG,

CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

发明名称：疟原虫感染的红细胞的识别方法及装置

技术领域

本发明属于医疗领域，尤其涉及疟原虫感染的红细胞识别的技术。

背景技术

疟原虫感染是全球许多地区特别是非洲地区的一种常见传染性疾病。疟原虫通过蚊虫叮咬进入人体血液循环系统，在红细胞内进行繁殖和增生。疟疾常会导致发热、畏寒等临床症状，治疗不及时甚至可能导致死亡。疟疾是严重威胁人类健康的传染性疾病。

当前诊断疟疾需要综合病史、旅行史、临床症状和镜检结果，而疟原虫感染的红细胞的识别对疟疾的识别起到关键的作用，现有的疟原虫的识别方法通过对病人作细胞形态学检查来确定疟原虫感染的红细胞，但是现有的血细胞形态学检查采用的薄膜涂片方式，单个视野内红细胞数目较少，容易漏诊，导致疟原虫感染的红细胞识别准确度差，并且人为检测由于人员水平的不同也会出现准确度差，效率低的问题。

发明内容

本发明实施例的目的在于提供一种疟原虫感染的红细胞的识别方法，旨在解决现有的技术方案在疟原虫感染的红细胞识别精度差，效率低的问题。

本发明一方面提供一种疟原虫感染的红细胞的识别方法，所述方法包括：
获取样本中细胞的前向散射光信号和侧向散射光信号，和任选的荧光信号；
根据所述前向散射光信号和侧向散射光信号得到第一二维散点图，或基于所述前向散射光信号、侧向散射光信号和荧光信号得到三维散点图；

将所述第一二维散点图或三维散点图中表现在预设区域内细胞识别为疟原

虫感染的红细胞。

另一方面，本发明还提供一种疟原虫感染的红细胞的识别装置，所述装置包括：

信号获取单元，获取样本中细胞的前向散射光和侧向散射光信号，和任选的荧光信号；

图形生成单元，根据所述前向散射光信号和侧向散射光信号得到第一二维散射图，或根据所述前向散射光信号、侧向散射光信号和荧光信号得到三维散射图；

识别单元，将在所述第一二维散点图或三维散点图中表现在预设区域内细胞识别为疟原虫感染的红细胞。

下一方面，本发明还提供一种疟原虫感染的红细胞的识别方法，所述方法包括：

使用试剂处理血液样本；

控制处理后的所述血液样本通过流式细胞仪的检测区；

检测获得所述血液样本的细胞的前向散射光强度和侧向散射光强度，和任选的荧光强度；

得到所述血液样本的第一散点图，所述第一散点图为二维散点图或三维散点图；

将所述第一散点图中表现在预设区域的细胞识别成疟原虫感染的红细胞。

又一方面，本发明还提供一种疟原虫感染的红细胞的识别装置，所述装置包括：

血液处理单元，对血液样本进行处理，得到处理后的血样；

检测单元，检测获得处理后的血样中细胞的散射光信号；

数据处理单元，根据所述散射光信号得到散点图，将所述散点图中表现在预设区域的细胞识别成疟原虫感染的红细胞。

上述技术方案通过对该血液样本进行试剂处理后，采用流式分析技术对该样本进行检测，得到散点图，然后根据散点图中细胞表现在的区域识别疟原虫

感染的红细胞，该方案可以有自动化仪器完成，同时减少了人为因素对识别精度的影响，所以具有检验快，识别精度高的优点，另外，该方案对整个血液样本的细胞进行分析处理，检测的细胞数量多，不会因为视野内红细胞数目较少而发生漏诊，所以其进一步提高了识别精度。

附图说明

图 1 是本发明具体实施方式提供的正常血液样本的前向散射光信号和侧向散射光信号的散点图；

图 2 是本发明具体实施方式提供的疟原虫感染血液样本的前向散射光信号和侧向散射光信号的散点图；

图 3 是本发明具体实施方式提供的一种疟原虫感染的红细胞的识别方法的流程图；

图 4 是本发明具体实施方式提供的一种疟原虫感染的红细胞的识别装置的结构图；

图 5 为本发明另一个具体实施方式提供的一种疟原虫感染的红细胞的识别方法的流程图；

图 6 为本发明另一个具体实施方式提供的一种疟原虫感染的红细胞的识别装置的结构图；

图 7 是本发明实施例一提供的流式细胞分析仪的结构图；

图 8 是本发明实施例一提供的疟原虫感染血液样本的三维散点图；

图 9 是本发明实施例一提供的正常血液样本的三维散点图；

图 10 是本发明实施例一提供的二维散点组合图。

需要额外说明的是，上述图 1、图 2、图 8、图 9、图 10 中的一个黑点表示一个细胞，椭圆表现一个细胞种类的区域。

具体实施方式

为了使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白，以下结合附图及实

施例，对本发明进行进一步详细说明。应当理解，此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明，并不用于限定本发明。

为了能够快速准确地筛选出疟原虫感染的血液样本，需要一种新的自动化的方法实现疟原虫感染的红细胞的识别。

我们经过研究发现，疟原虫感染病人的血液样本中的感染红细胞在细胞膜性质和内部形态性质方面，与正常的红细胞不同，而与正常的白细胞有某些性质上的类似，有可能在白细胞分类的同时把疟原虫感染的红细胞识别出来。由于疟原虫感染的红细胞相比正常白细胞平均体积略小，相比正常白细胞平均的细胞内复杂程度略大，有可能在白细胞分类散点图（X轴为侧向散射光强度，Y轴为前向散射光强度）的正常白细胞群的右下方表现出来。经过反复的实验，通过对其血液样本的散射光信号进行处理和分析，我们发现在根据前向散射光信号和侧向散射光信号得到的散点图中，特定区域稳定地出现细胞群，经过研究确认该细胞群为疟原虫感染的红细胞。

为了方便说明，我们提供了正常血液样本的前向散射光信号和侧向散射光信号的散点图（如图1）；疟原虫感染血液样本的前向散射光信号和侧向散射光信号的散点图如图2所示，对比图1和图2，在特定的区域出现疟原虫感染的红细胞群。

此外，我们还发现，疟原虫感染的红细胞比正常红细胞的平均荧光强度略小，在三维的白细胞分类散点图（X轴为侧向散射光强度，Y轴为前向散射光强度，Z轴为荧光强度）的正常白细胞群的下方表现处理。经过试验，在白细胞分类的三维散点图的特定区域清晰地出现细胞群，经过验证该细胞群为疟原虫感染的红细胞。对比图8和图9，可见在特定的区域出现疟原虫感染的红细胞群。

本发明提供一种疟原虫感染的红细胞的识别方法，该方法由流式分析仪完成，该方法如图3所示，包括：

S31、使用试剂处理血液样本；

S32、检测所述血液样本的细胞的前向散射光强度和侧向散射光强度，和任选的荧光强度；

S33、得到所述血液样本的第一散点图，所述第一散点图为二维散点图或三维散点图；

S34、将所述第一散点图中表现在预设区域的细胞识别成疟原虫感染的红细胞。

本发明提供的方法对该血液样本进行处理后，采用流式细胞技术对该样本进行处理得到散点图，然后根据散点图中细胞表现在的区域识别疟原虫感染的红细胞，该方法均由自动化仪器完成，所以该方法减少了人为因素的影响，提高了识别精度，所以其具有检验快，识别精度高的优点，另外，该方法对整个血液样本的细胞进行分析处理，其检验的范围广，不会因为视野内红细胞数目而发生漏诊，所以其进一步提高了识别精度。

需要说明的是，上述 S31 中的试剂可以为溶血剂，本发明并不限定该溶血剂的具体组分，只需该试剂能够溶解正常的红细胞即可，优选，试剂包含对细胞进行标记的荧光染料，和使白细胞膜发生部分破损的表面活性剂，该表面活性剂优选阳离子表面活性剂，特别是季铵盐型的表面活性剂。另外，上述溶血剂与血液样本的比例也无特殊要求，例如体积比可以为：1:50；当然也可以为其他的比例，例如 1:45 等，本发明并不限制该比例的具体范围。

可选的，实现 S32 的方法中的任选的荧光强度表示该荧光强度可以由用户根据实际情况自行增加，当然在实际情况中，用户也可以选择不增加荧光强度。另外，当用户选择增加荧光强度时，使用流式分析仪的前向散射光信号、侧向散射光信号和荧光信号对处理后的血液样本进行照射分析得到该血液样本的三维散点图。采用三种信号照射分析得到的三维散点图比 S32 中的前向散射光强度信号和侧向散射光强度信号得到的散点图（二维）能进一步提高疟原虫感染的红细胞的识别精度。

统计所述疟原虫感染的红细胞的细胞数量，获取所述血液样本的与疟原虫感染相关的红细胞系血常规检测参数，在所述细胞数量大于第二阈值且所述红细胞系血常规检测参数不在正常范围时，发出报警信号。

可选的，上述方法在 S34 之后还可以包括：统计上述散点图中疟原虫感染

的红细胞的细胞数量，在细胞数量大于第一阈值时，发出报警信号。当然上述报警的条件还可以为其他组合条件，发出报警信号。由于疟原虫感染会导致多个红细胞系血常规检测参数不在正常值的范围之内，可以利用其结合细胞计数结果，提高报警的灵敏度，在较低细胞数量，也就是第二个阈值时发出报警信号。例如，在细胞数量大于第二阈值且该红细胞系血常规检测参数不在正常范围时，发出报警信号；该红细胞系血常规检测参数选自：红细胞总数或血红蛋白浓度，即红细胞总数（Red Blood Cell count，RBC）或血红蛋白浓度（Hemoglobin Concentration，HGB）或平均红细胞血红蛋白含量（Mean Corpuscular Hemoglobin，MCH）或平均红细胞血红蛋白浓度（Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration，MCHC）或平均红细胞体积（Mean Corpuscular Volume，MCV）或红细胞压积（Hematocrit，HCT）。需要说明是，上述阈值具体可以为一个确定的数值，当然也可以为一个比值，例如上述细胞数量与细胞总数的比值数。

可选的，上述方法在 S34 之后，还可以包括：

统计疟原虫感染的红细胞的细胞数量，在细胞数量大于第二阈值时，获取血液样本的第二散点图，在第二散点图出现异常情况时，发起报警信号；

上述第二散点图具体可以为：由细胞的侧向散射光强度和荧光强度得到的第二散点图，上述异常情况为与疟原虫感染的红细胞相关的异常情况。

上述异常情况具体可以为：在第二散点图的高荧光区域计数到细胞群。该高荧光区域计数到细胞群是指在信号处理中，在高荧光区域出现可以识别为细胞群的信号强度。实际情况例如第二散点图出现单核细胞区域和淋巴细胞区域的上方出现高荧光细胞群。

本发明还提供的一种疟原虫感染的红细胞的识别装置，该装置具体可以为：流式分析仪完成，当然该装置也可以安装在其他的检验设备上，该装置如图 4 所示，包括：

血液处理单元 41，对血液样本进行处理，得到处理后的血样；

检测单元 42，获取处理后的血样中细胞的散射光信号；

数据处理单元 43，根据所述散射光信号得到散点图，将所述散点图中表现在预设区域的细胞识别成疟原虫感染的红细胞。

本发明提供的装置对该血液样本进行试剂处理后，采用流式细胞技术对该样本进行处理得到散点图，然后根据散点图中细胞表现在的区域识别疟原虫感染的红细胞，该装置均由自动化仪器完成，所以该方法减少了人为因素的影响，提高了识别精度，所以其具有检验快，识别精度高的优点，另外，该装置对整个血液样本的细胞进行分析处理，其检验的范围广，不会因为视野内红细胞数目而发生漏诊，所以其进一步提高了识别精度。

可选的，检测单元 42 还获取该血液样本细胞的荧光信号。

可选的，上述装置还可以包括：

统计报警单元 44，统计疟原虫感染的红细胞的细胞数量；

第一报警单元 45，在所述细胞数量大于第一阈值时，发出报警信号。

可选的，上述装置还包括：

统计报警单元 44，统计疟原虫感染红细胞的细胞数量；

数据处理单元 43，还得到所述血液样本与疟原虫感染相关的红细胞系血常规检测参数；

第二报警单元 46，在所述细胞数量大于第二阈值且所述红细胞系血常规检测参数不在正常范围时，发出报警信号。另外，需要说明的是，上述阈值的表现形式与方法实施例相同。

可选的，上述红细胞系血常规检测参数具体为：红细胞总数或血红蛋白浓度。

可选的，上述装置还可以包括：

统计报警单元 44，统计疟原虫感染的红细胞的细胞数量，

第三报警单元 47，在所述细胞数量大于第二阈值时，获取血液样本的第二散点图；第二散点图为：由血液样本细胞的侧向散射光强度和荧光强度得到的所述第二散点图，在第二散点图高荧光区域计数到细胞群时，发出报警信号。

上述试剂的说明可以参见方法实施例的说明，这里不在赘述。

本发明又提供一种样本中疟原虫感染的红细胞的识别方法，该方法如图 5 所示，包括：

S51、获取样本中细胞的前向散射光信号和侧向散射光信号，和任选的荧光信号；

S52、根据所述前向散射光信号和侧向散射光信号得到第一二维散射图，或基于所述前向散射光信号、侧向散射光信号和荧光信号得到三维散射图；

S53、将所述第一二维散点图或三维散点图中表现在预设区域内细胞识别为疟原虫感染的红细胞。

本发明提供的方法获取样本的前向散射光信号和侧向散射光信号，和任选的荧光信号得到第一二维散点图或三维散点图，然后根据散点图中细胞表现在的区域识别疟原虫感染的红细胞，该方法均由自动化仪器完成，所以该方法减少了人为因素的影响，提高了识别精度，所以其具有检验快，识别精度高的优点。

可选的，上述方法在 S53 之后还可以包括：

统计所述疟原虫感染的红细胞的细胞数量，在所述细胞数量大于第一阈值时，发出报警信号。

可选的，上述方法在 S53 之后还可以包括：

统计所述疟原虫感染的红细胞的细胞数量，获取所述样本的与疟原虫感染相关的红细胞系血常规检测参数，在所述细胞数量大于第二阈值，且所述红细胞系血常规检测参数不在正常范围内时，发出报警信号。

需要说明的是，上述红细胞系血常规检测参数具体可以为：红细胞总数或血红蛋白浓度。

可选的，上述方法在 S53 之后还可以包括：

统计所述疟原虫感染的红细胞的细胞数量，根据侧向散射光信号和荧光信号得到第二二维散点图，在所述第二二维散点图出现高荧光细胞群，且在所述细胞个数大于第二阈值时，发出报警信号。

需要说明的是，上述阈值的具体表现形式可以参见方法实施例的表述，另

外，上述高荧光细胞群的定义也可以参见方法实施例的表述。

本发明还提供一种样本中疟原虫感染的红细胞的识别装置，该装置如图 6 所示，包括：

信号获取单元 61，获取样本中细胞的前向散射光和侧向散射光信号，和任选的荧光信号；

图形生成单元 62，根据所述前向散射光信号和侧向散射光信号得到第一二维散射图，或根据所述前向散射光信号、侧向散射光信号和荧光信号得到三维散射图；

识别单元 63，将在所述第一二维散点图或三维散点图中表现在预设区域内细胞识别为疟原虫感染的红细胞。

本发明提供的装置获取样本的前向散射光信号和侧向散射光信号，和任选的荧光信号得到第一二维散点图或三维散点图，然后根据散点图中细胞表现在的区域识别疟原虫感染的红细胞，该装置均由自动化仪器完成，所以该装置减少了人为因素的影响，提高了识别精度，所以其具有检验快，识别精度高的优点。

可选的，上述装置还可以包括：

统计报警单元 64，统计所述疟原虫感染的红细胞的细胞数量，在所述细胞数量大于第一阈值时，发出报警信号。

可选的，上述统计报警单元 64，统计所述疟原虫感染的红细胞的细胞数量，还获取该血液样本的与疟原虫感染相关的红细胞系血常规检测参数，在所述细胞数量大于第二阈值，且所述红细胞系血常规检测参数不在正常值的范围内时，发出报警信号。

可选的，上述统计报警单元 64，统计预设区域内的细胞数量，还根据血液样本细胞的侧向散射光信号和荧光信号得到第二二维散点图，在所述第二二维散点图出现高荧光细胞群，且在所述细胞数量大于第二阈值时，发出报警信号。

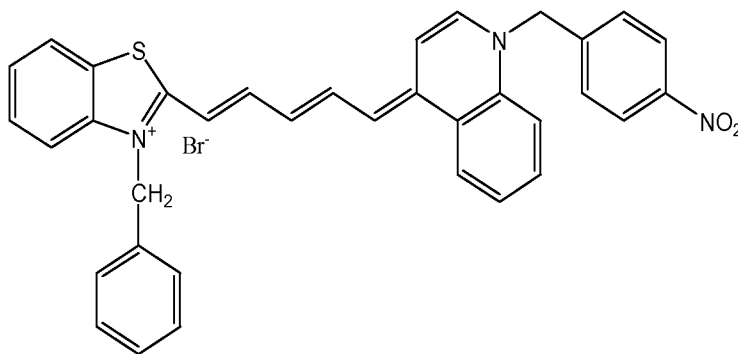
本文所述预设区域，可以是经过对比正常人血样和疟原虫感染病人的血样，统计分析后，得到在散点图中的特定区域。将该特定区域的参数输入识别单元

得到预设区域。在未知血样散点图中，表现在该预设区域中的细胞识别为疟原虫感染的红细胞。或者，是经过对比正常人血样和疟原虫感染病人的血样，统计分析后，得到疟原虫感染的红细胞的区域与正常白细胞区域的相对位置关系函数，将该函数输入识别单元。在未知血样散点图中，根据正常白细胞区域，以及该相对位置关系函数，确定预设区域。

本文中，第一阈值和第二阈值可以是疟原虫感染的红细胞的个数，也可以是疟原虫感染红细胞相比正常红细胞的百分比。该阈值可以是预先设定好的，也可以由用户通过人机互动界面设定。

实施例一

本实施例提供一种疟原虫感染的红细胞的识别方法，本实施例实现的技术场景具体可以为：本实施例提供的方法由流式细胞分析仪完成，该分析仪具体可以采用深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司生产的BC系列流式细胞分析仪，该分析仪的具体结构如图7所示，该溶血剂的配方可以为：试剂A，该试剂A具体可以包括：染料A（0.5ppm）、癸基溴化异喹啉（0.4g/L）、十二烷基醇聚氧乙烯（23）醚（1.3g/L）、苯甲酸钠（2.0g/L）、甲醇（50g/L）、磷酸二氢钠（3g/L）和磷酸氢二钠（4.8g/L）。其中染料A的结构式如下所示：



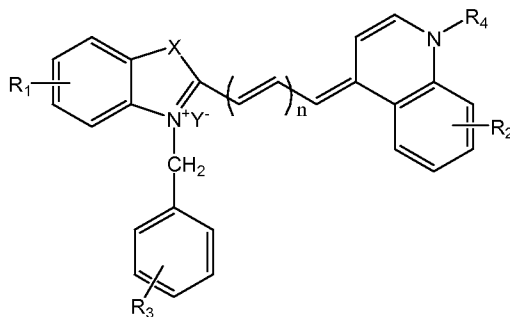
另外，上述试剂的体积可以为1ml，上述血液样本采用新鲜抗凝血20 μl，温度可以保持在25℃。本实施例提供的方法包括下述步骤：

对血液样本进行试剂A处理后，采用测定角度为90°的侧向荧光测定处理后的血液样本细胞的荧光强度信息，采用测定角度为90°的侧向散射光测定处理后的血液样本细胞的侧向散射光强度信息，采用测定角度2°—5°的前向散射光测定处理后的血液样本细胞的前向散射光强度信息得到三维散点图（如图8所

示), 图8为正常血液样本的三维散点图; 在三维散点图中出现在疟原虫感染的红细胞区域的散点识别为疟原虫感染的红细胞, 当感染红细胞超过报警的个数 (即第一阈值时), 产生报警; 当然报警的条件还可以为其他条件, 例如当感染红细胞未超过报警的个数, 但是个数还是较多 (即超过第二阈值) 且HGB或RBC的值偏低 (即低于正常水平时) 时, 也产生报警。当然在实际情况中还可以为其他方式, 例如, 在前向散射光和侧向散射光的二维散点图 (如图10所示) 中疟原虫感染的红细胞个数较多 (即大于第二阈值) 且侧向散射光和荧光的二维散点图 (如图10所示) 的单核细胞区域和淋巴细胞区域的上方出现高荧光细胞群时, 也产生报警。此种情况是利用疟原虫感染血液样本的白细胞会吞噬疟色素的原理来综合识别疟原虫感染的红细胞, 通过多信息的综合识别疟原虫感染的红细胞, 有利于提高疟原虫识别的精度。

中国申请200910177186.7中公开的白细胞分类计数试剂, 也适用本发明的方法, 也可以识别疟原虫感染的红细胞。所述试剂包括:

(1) 选自如下通式I和II的花菁类阳离子化合物:



I

其中

n 为1、2或3;

X 为 $C(CH_3)_2$ 、O、S或Se;

R_1 和 R_2 各自独立选自H、 C_{1-18} 烷基、 $-C_{1-6}$ 烷基- OR_5 或卤素;

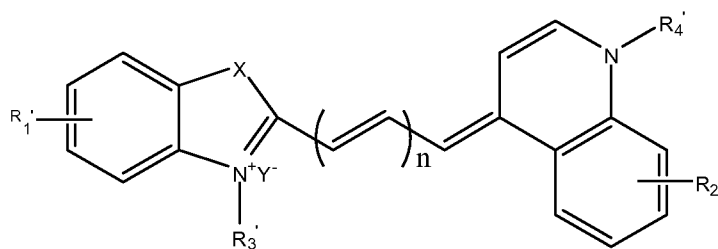
R_3 为H、 C_{1-18} 烷基、 OR_5 、 $-C_{1-6}$ 烷基- OR_5 、 $COOR_5$ 、 NO_2 、CN或卤素;

R_4 为 C_{1-18} 烷基、 $-C_{1-6}$ 烷基- OR_5 、苄基或卤素，其中苄基由选自以下的取代基任选取代：卤素、羟基、巯基、氰基、硝基、烷基、芳基、烷氧基、杂环基、卤代烷基、氨基、烷基氨基、酰氨基、羧基；

R_5 为H或 C_{1-18} 烷基；

Y^- 为负离子；

或者



II

其中

n 为1、2或3；

X 为 $C(CH_3)_2$ 、O、S或Se；

R_1' 和 R_2' 各自独立选自H、OH、 C_{1-18} 烷基、 C_{1-6} 烷基 OR_5' 、 C_{1-18} 烷基磺酸基、苄基或卤素；

R_3' 、 R_4' 各自独立选自 C_{1-18} 烷基 $COOR_6'$ 、 C_{1-18} 烷基 OR_6' 、苄基，其中苄基由选自以下的取代基任选取代：卤素、羟基、巯基、氰基、硝基、烷基、芳基、烷氧基、杂环基、卤代烷基、氨基、烷基氨基、酰氨基、羧基，条件是 R_3' 和 R_4' 不同时为苄基，且 R_3' 为苄基时 R_4' 不为 C_{1-18} 烷基 OR_6' ；

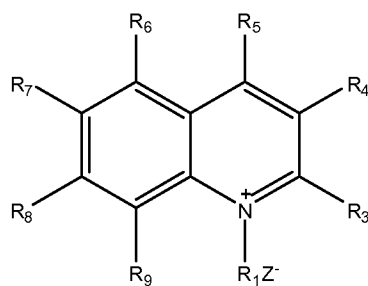
R_5' 为 C_{1-18} 烷基或者H；

R_6' 为 C_{1-18} 烷基、H或者苄基，其中苄基由选自以下的取代基任选取代：卤素、羟基、巯基、氰基、硝基、烷基、芳基、烷氧基、杂环基、卤代烷基、氨基、烷基氨基、酰氨基、羧基；

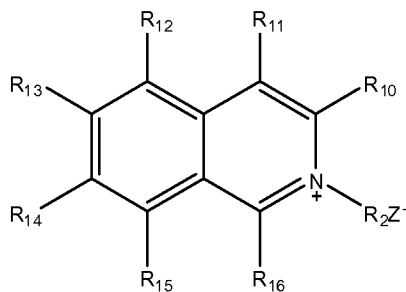
Y^- 为负离子；

(2) 阳离子表面活性剂，所述阳离子表面活性剂为通式III和/或IV的喹啉盐型阳离子表面活性剂：

13



III



IV

其中

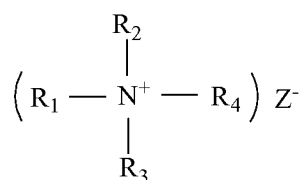
R₁和R₂分别独立选自C₆₋₁₈烷基和C₆₋₁₈卤代烷基;

R₃ ~ R₁₆分别独立选自H、OH、C₁₋₄烷基、C₁₋₄烷氧基和磺酸基;

Z为卤素离子;

和/或

通式V的季铵盐型阳离子表面活性剂,



V

其中

R₁为C₆₋₁₄烷基或C₆₋₁₄链烯基, 优选选自己基、辛基、癸基、月桂基或十四烷基的直链烷基, 特别优选选自辛基、癸基、月桂基或十四烷基的直链烷基;

R₂为C₁₋₄烷基或C₂₋₄链烯基, 优选甲基、乙基、丙基、丁基或丁烯基, 特别优选甲基、乙基或丙基;

R_3 为 C_{1-4} 烷基或 C_{2-4} 链烯基, 优选甲基、乙基、丙基、丁基或丁烯基, 特别优选甲基、乙基或丙基;

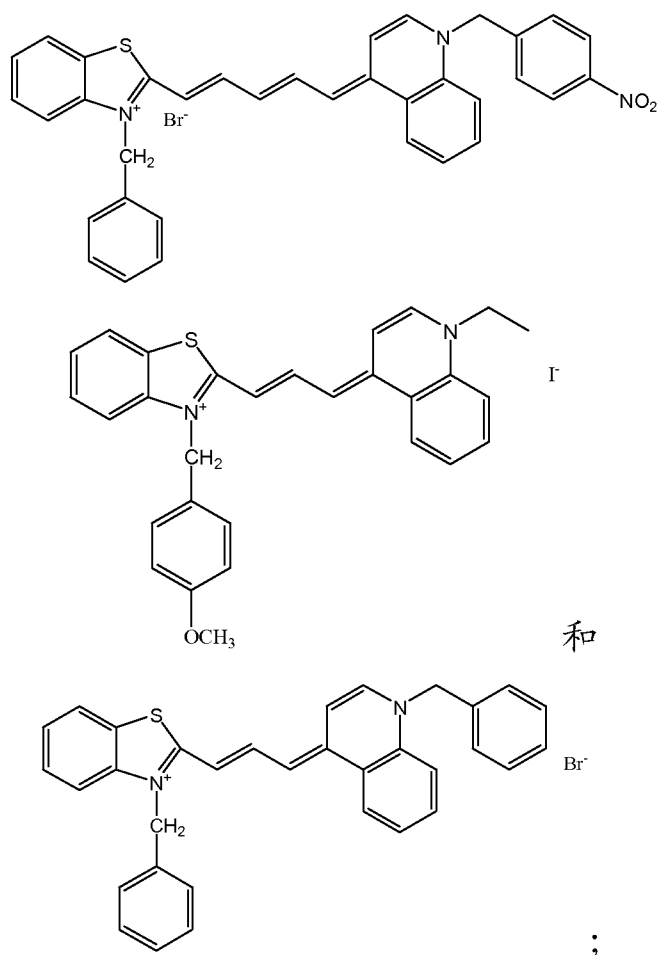
R_4 为 C_{1-4} 烷基或 C_{2-4} 链烯基或苄基, 优选甲基、乙基、丙基、丁基、丁烯基或苄基, 特别优选甲基、乙基或丙基;

Z为卤素离子;

(3) 至少一种非离子表面活性剂。

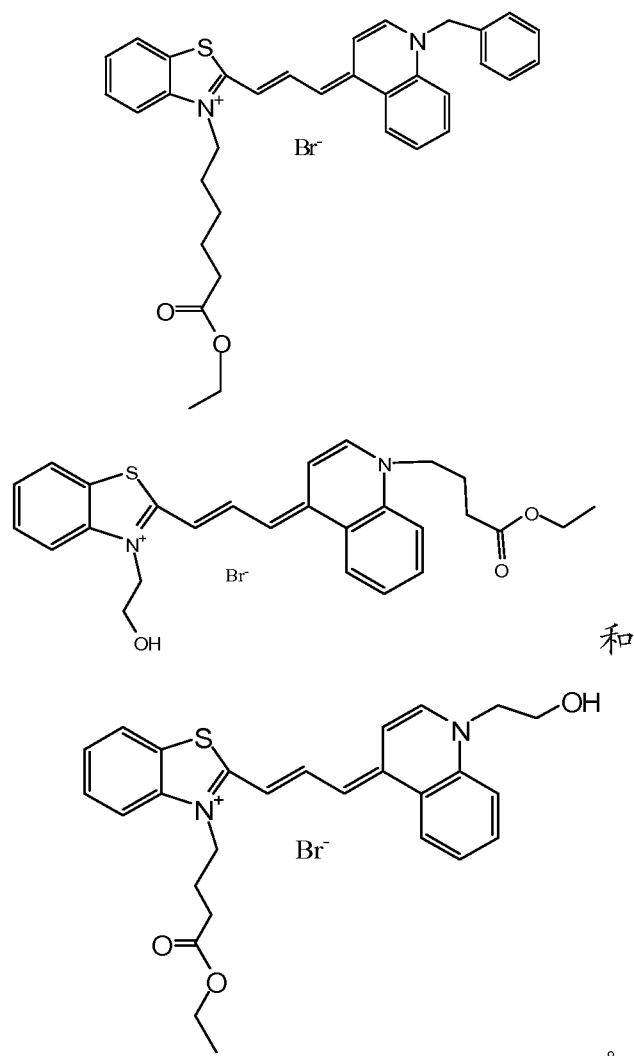
试剂还可以含有至少一种选自带有一个或多个羧基或磺酸基的阴离子化合物。

具有通式I结构的化合物选自:



具有通式II结构的化合物选自:

15



该申请的内容援引加入本发明，具体试剂的成分和配制方法参见该申请内容，本文不作赘述。

本领域普通技术人员可以意识到，结合本文中所公开的实施例描述的各示例的单元及算法步骤，能够以电子硬件、或者计算机软件和电子硬件的结合来实现。这些功能究竟以硬件还是软件方式来执行，取决于技术方案的特定应用和设计约束条件。专业技术人员可以对每个特定的应用来使用不同方法来实现所描述的功能，但是这种实现不应认为超出本发明的范围。

所属领域的技术人员可以清楚地了解到，为描述的方便和简洁，上述描述的系统、装置和单元的具体工作过程，可以参考前述方法实施例中的对应过程，在此不再赘述。

在本申请所提供的实施例中，应该理解到，所揭露的装置和方法，可以通

过其它的方式实现。例如，以上所描述的装置实施例仅仅是示意性的，例如，所述单元的划分，仅仅为一种逻辑功能划分，实际实现时可以有另外的划分方式，例如多个单元或组件可以结合或者可以集成到另一个系统，或一些特征可以忽略，或不执行。

所述作为分离部件说明的单元可以是或者也可以不是物理上分开的，作为单元显示的部件可以是或者也可以不是物理单元，即可以位于一个地方，或者也可以分布到多个网络单元上。可以根据实际的需要选择其中的部分或者全部单元来实现本实施例方案的目的。

另外，在本发明实施例中的各功能单元可以集成在一个处理单元中，也可以是各个单元单独物理存在，也可以两个或两个以上单元集成在一个单元中。

所述功能如果以软件功能单元的形式实现并作为独立的产品销售或使用，可以存储在一个计算机可读取存储介质中。基于这样的理解，本发明的技术方案本质上或者说对现有技术做出贡献的部分或者该技术方案的部分可以以软件产品的形式体现出来，该计算机软件产品存储在一个存储介质中，包括若干指令用以使得一台计算机设备（可以是个人计算机，服务器，或者网络设备等）执行本发明各个实施例所述方法的全部或部分步骤。而前述的存储介质包括：U 盘、移动硬盘、只读存储器（ROM，Read-Only Memory）、随机存取存储器（RAM，Random Access Memory）、磁碟或者光盘等各种可以存储程序代码的介质。

以上所述仅为本发明的较佳实施例而已，并不用以限制本发明，凡在本发明的原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

权利要求书

- 1、一种疟原虫感染的红细胞的识别方法，其特征在于，所述方法包括：
获取样本中细胞的前向散射光信号和侧向散射光信号，和任选的荧光信号；
根据所述前向散射光信号和侧向散射光信号得到第一二维散点图，或基于所述前向散射光信号、侧向散射光信号和荧光信号得到三维散点图；
将所述第一二维散点图或三维散点图中表现在预设区域内细胞识别为疟原虫感染的红细胞。
- 2、根据权利要求1所述的方法，其特征在于，所述方法还包括：
统计所述疟原虫感染的红细胞的细胞数量，在所述细胞数量大于第一阈值时，发出报警信号。
- 3、根据权利要求1所述的方法，其特征在于，所述方法还包括：
统计所述疟原虫感染的红细胞的细胞数量，获取所述样本的与疟原虫感染相关的红细胞系血常规检测参数，在所述细胞数量大于第二阈值，且所述红细胞系血常规检测参数不在正常范围内，发出报警信号。
- 4、根据权利要求3所述的方法，其特征在于，所述红细胞系血常规检测参数选自红细胞总数或血红蛋白浓度或平均红细胞血红蛋白含量或平均红细胞血红蛋白浓度或平均红细胞体积或红细胞压积。
- 5、根据权利要求1所述的方法，其特征在于，所述方法还包括：
统计所述疟原虫感染的红细胞的细胞数量；
根据侧向散射光信号和荧光信号得到第二二维散点图，在所述第二二维散点图出现高荧光细胞群，且在所述细胞数量大于第二阈值时，发出报警信号。
- 6、一种疟原虫感染的红细胞的识别装置，其特征在于，所述装置包括：
信号获取单元，获取样本中细胞的前向散射光和侧向散射光信号，和任选的荧光信号；
图形生成单元，根据所述前向散射光信号和侧向散射光信号得到第一二维散点图，或根据所述前向散射光信号、侧向散射光信号和荧光信号得到三维散

射图；

识别单元，将在所述第一二维散点图或三维散点图中表现在预设区域内细胞识别为疟原虫感染的红细胞。

7、根据权利要求6所述的装置，其特征在于，所述装置还包括：

统计报警单元，统计所述疟原虫感染的红细胞的细胞数量，在所述细胞数量大于第一阈值时，发出报警信号。

8、根据权利要求6所述的装置，其特征在于，所述装置还包括：

统计报警单元，统计所述疟原虫感染的红细胞的细胞数量，获取该血液样本的与疟原虫感染相关的红细胞系血常规检测参数，在所述细胞数量大于第二阈值，且所述红细胞系血常规检测参数不在正常范围时，发出报警信号。

9、根据权利要求6所述的装置，其特征在于，所述装置还包括：

统计报警单元，统计预设区域内的细胞数量；

根据血液样本细胞的侧向散射光信号和荧光信号得到第二二维散点图，在所述第二二维散点图出现高荧光细胞群，且在所述细胞个数大于第二阈值时，发出报警信号。

10、一种疟原虫感染的红细胞的识别方法，其特征在于，所述方法包括：

使用试剂处理血液样本；

控制处理后的所述血液样本通过流式细胞仪的检测区；

检测获得所述血液样本的细胞的前向散射光强度和侧向散射光强度，和任选的荧光强度；

得到所述血液样本的第一散点图，所述第一散点图为二维散点图或三维散点图；

将所述第一散点图中表现在预设区域的细胞识别成疟原虫感染的红细胞。

11、根据权利要求10所述的方法，其特征在于，所述方法还包括：

统计所述疟原虫感染的红细胞的细胞数量，在所述细胞数量大于第一阈值时，发出报警信号。

12、根据权利要求10所述的方法，其特征在于，所述方法还包括：

统计所述疟原虫感染的红细胞的细胞数量；

获取所述血液样本的与疟原虫感染相关的红细胞系血常规检测参数，在所述细胞数量大于第二阈值且所述红细胞系血常规检测参数不在正常范围时，发出报警信号，其中所述第二阈值小于所述第一阈值。

13、根据权利要求 10 所述的方法，其特征在于，所述方法还包括：

统计疟原虫感染的红细胞的细胞数量；

获取所述血液样本的第二散点图，在所述细胞数量大于第二阈值且所述第二散点图出现异常情况时，发出报警信号；

所述第二散点图具体为：由细胞的侧向散射光强度和荧光强度得到的所述第二散点图，所述异常情况为与疟原虫感染的红细胞相关的异常情况。

14、根据权利要求 13 所述的方法，其特征在于，所述异常情况具体为：

在所述第二散点图的高荧光区域计数到细胞群。

15、一种疟原虫感染的红细胞的识别装置，其特征在于，所述装置包括：

血液处理单元，对血液样本进行处理，得到处理后的血样；

检测单元，检测获得处理后的血样中细胞的散射光信号；

数据处理单元，根据所述散射光信号得到散点图，将所述散点图中表现在预设区域的细胞识别成疟原虫感染的红细胞。

16、根据权利要求 15 所述的装置，其特征在于，所述检测单元还获取所述血液样本细胞的荧光信号。

17、根据权利要求 15 所述的装置，其特征在于，所述装置还包括：

统计报警单元，统计疟原虫感染的红细胞的细胞数量；

第一报警单元，在所述细胞数量大于第一阈值时，发出报警信号。

18、根据权利要求 15 所述的装置，其特征在于，所述装置还包括：

统计报警单元，统计疟原虫感染红细胞的细胞数量；

所述数据处理单元还得到所述血液样本与疟原虫感染相关的红细胞系血常规检测参数；

第二报警单元，在所述细胞数量大于第二阈值且所述红细胞系血常规检测

参数不在正常范围时，发出报警信号。

19、根据权利要求 15 所述的装置，其特征在于，所述装置还包括：

统计报警单元，统计疟原虫感染的红细胞的细胞数量；

所述数据处理单元还根据侧向散射光信号和荧光信号得到所述血液样本的第二散点图；

第三报警单元，在所述细胞数量大于第二阈值且所述第二散点图高荧光区域计数到细胞群时，发出报警信号。

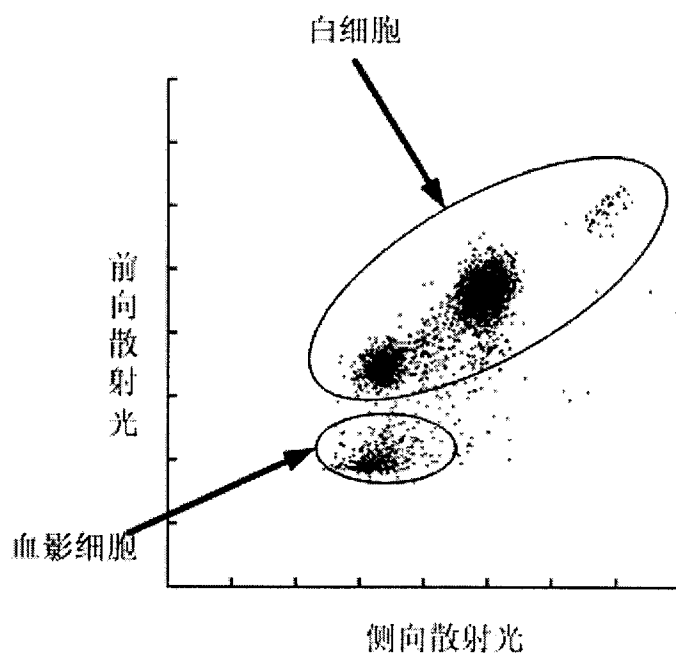


图 1

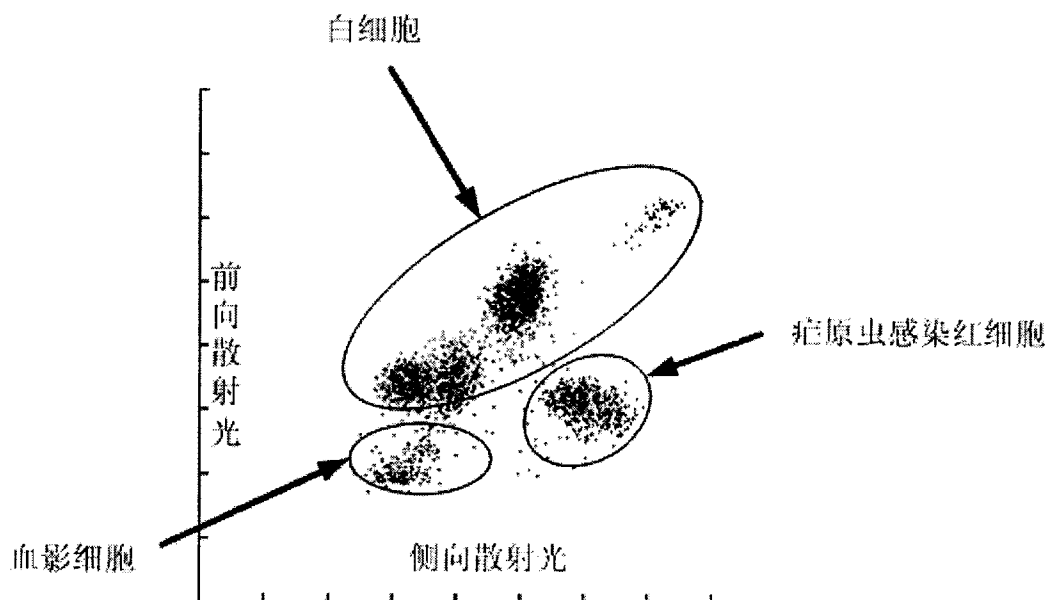


图 2

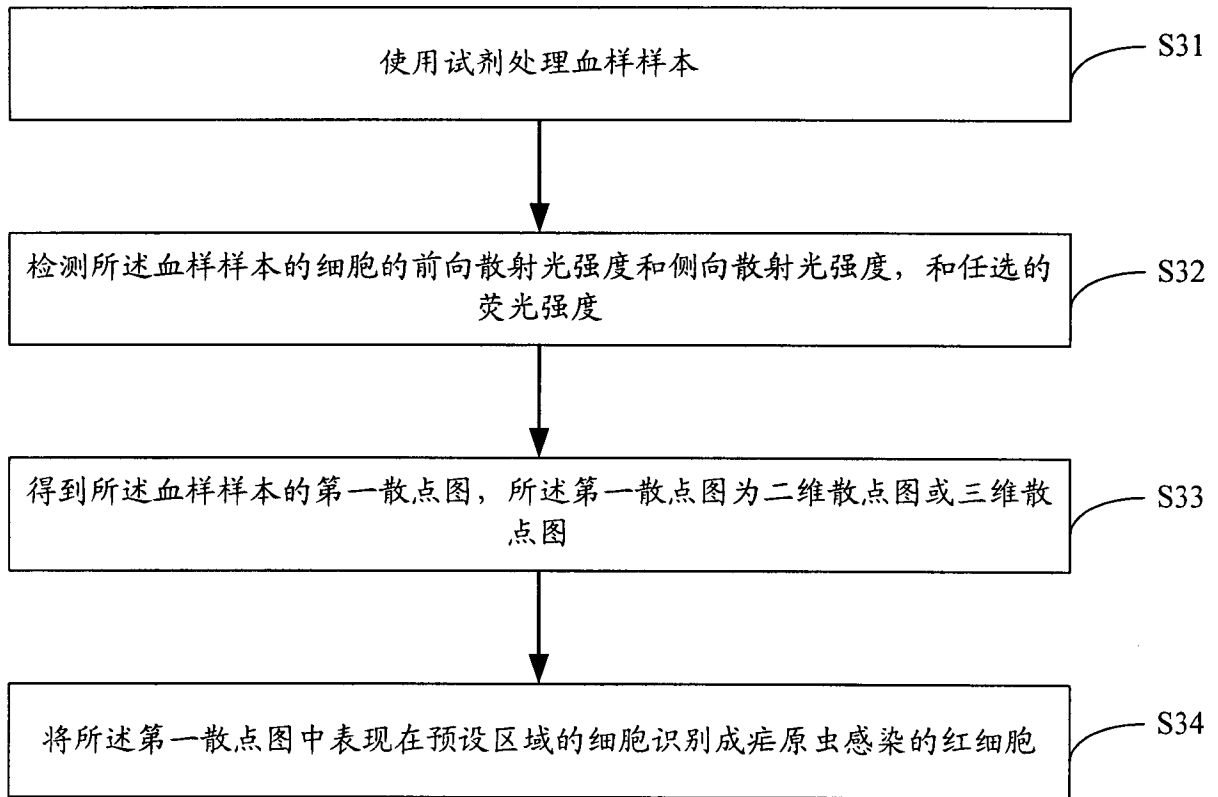


图 3

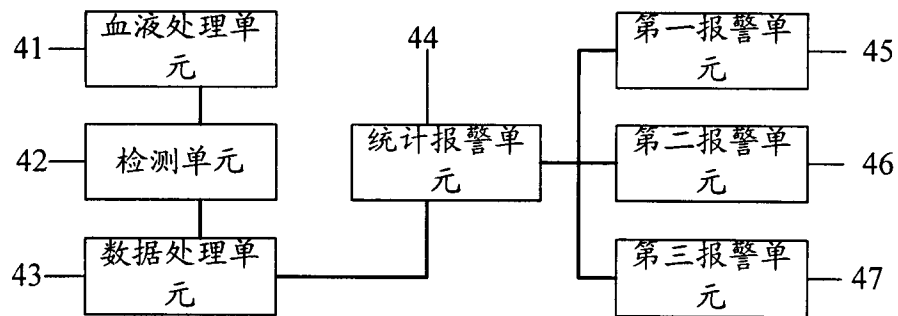


图 4

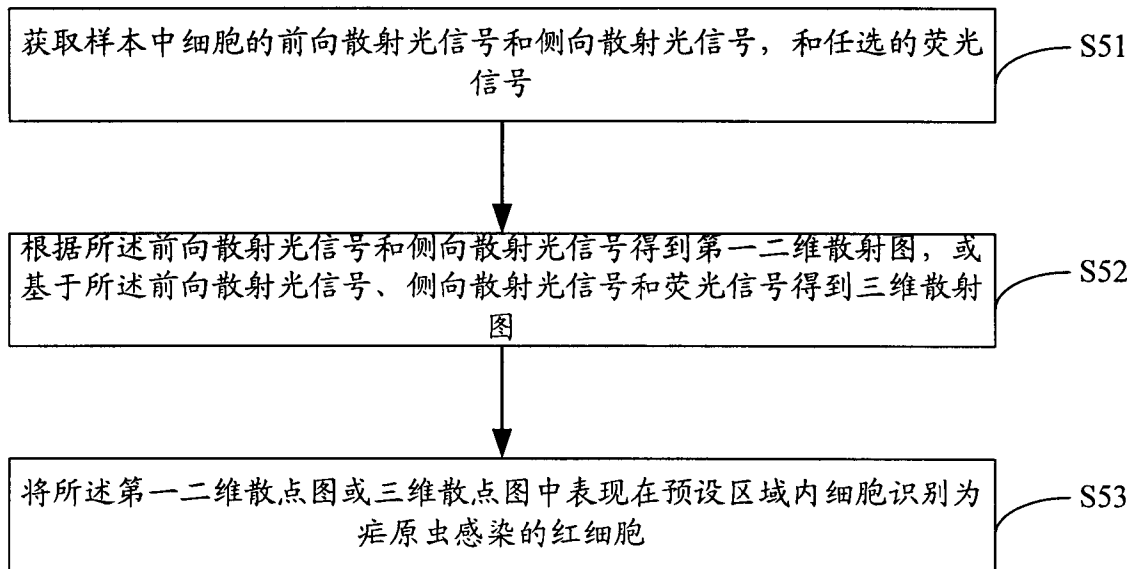


图 5

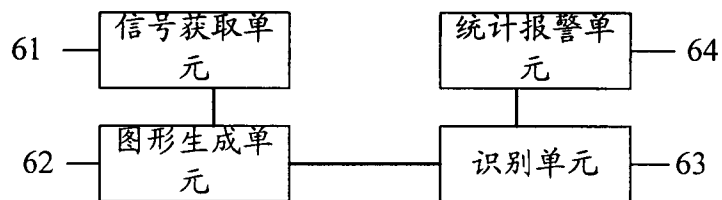


图 6

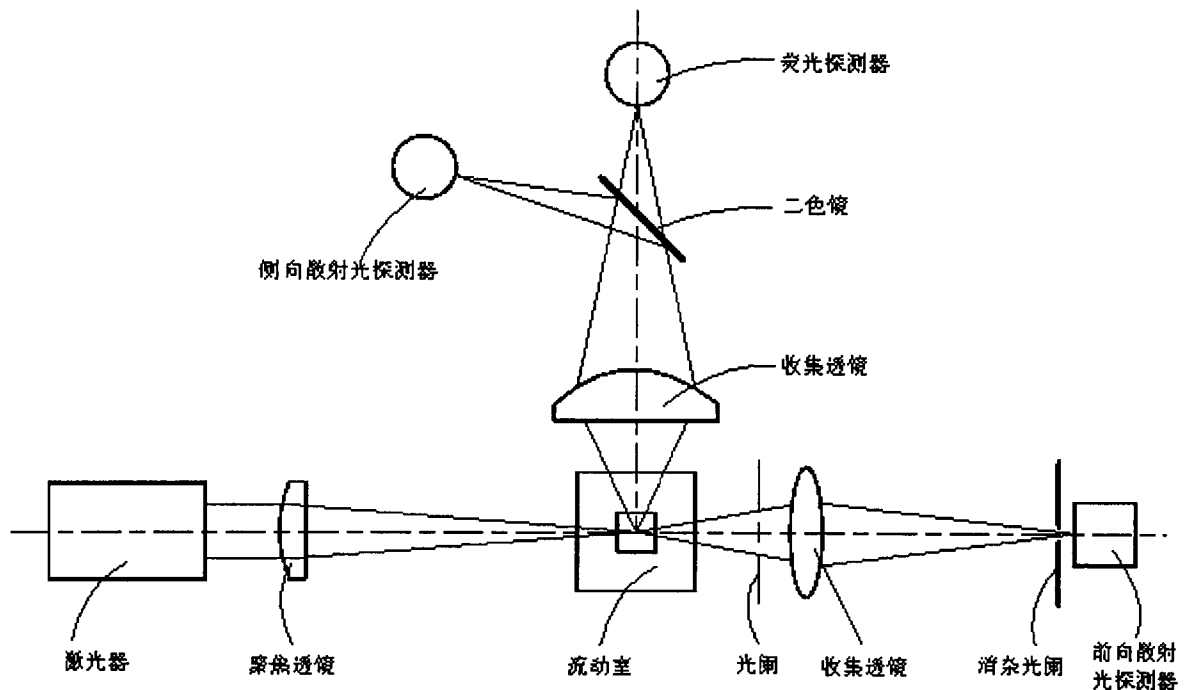


图 7

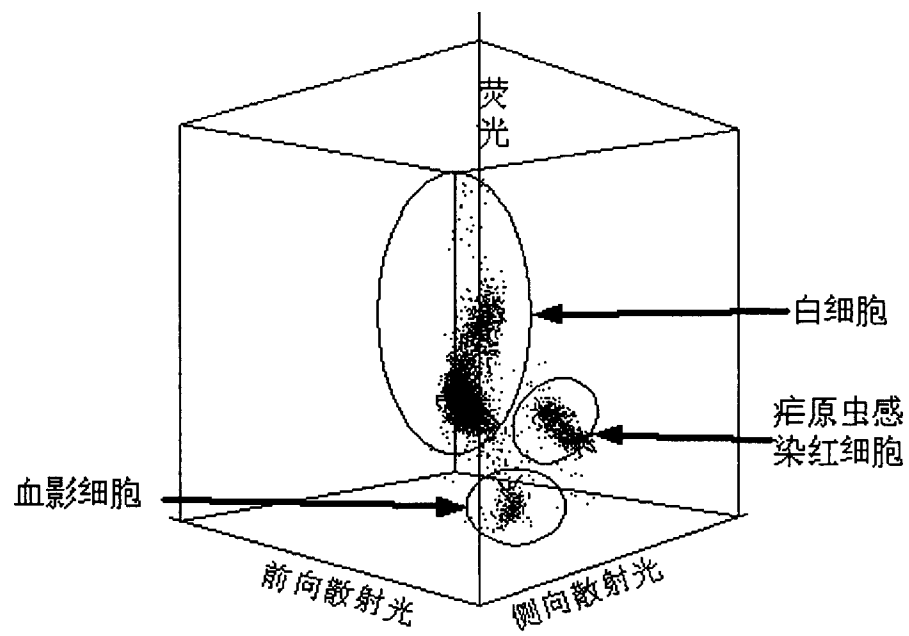


图 8

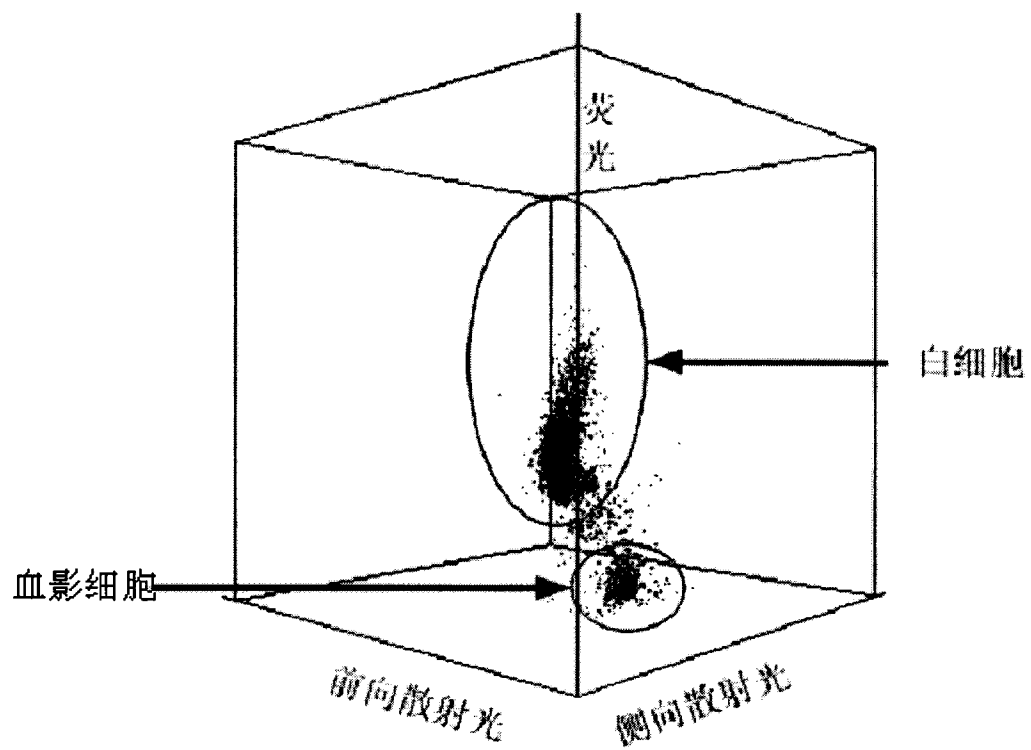


图 9

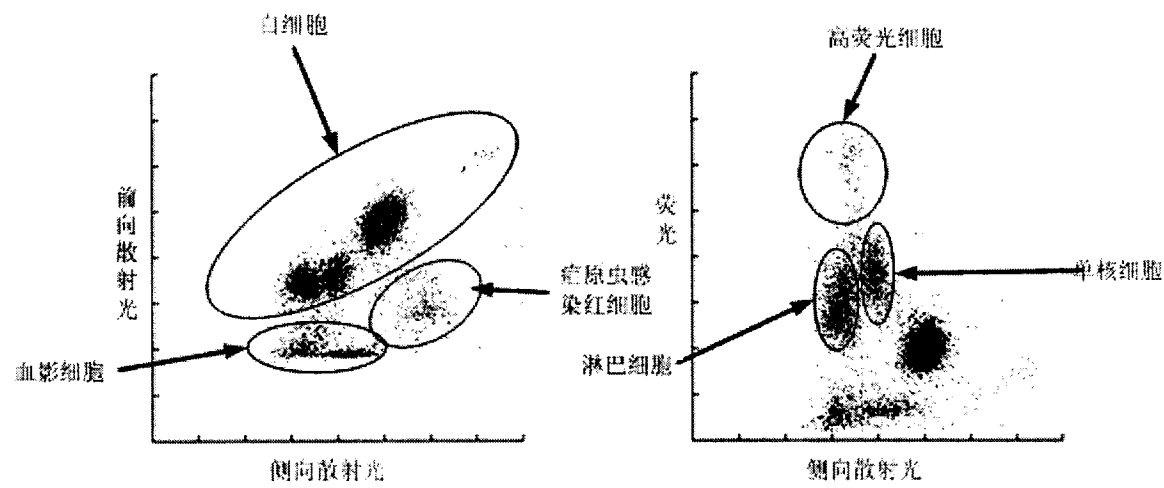


图 10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2012/083864

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See the extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: G01N21/-; G01N33/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, CNTXT, CNKI, VEN, ISI Web of Knowledge: malaria, impaludism, ague, paludism, swamp, fever, fluoresce+, scatter+, dispers+, red, blood

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1746407 A2 (SYSMEX CORP) 24 Jan. 2007 (24.01.2007) description, paragraphs 26-66, figures 1-16	1-19
A	CN 102016573 A (SYSMEX CORP) 13 Apr. 2011 (13.04.2011) the whole document	1-19
A	CN 102016577 A (SYSMEX CORP) 13 Apr. 2011 (13.04.2011) the whole document	1-19
A	CN 101389947 A (HONEYWELL INT INC) 18 Mar. 2009 (18.03.2009) the whole document	1-19
A	CN 102109430 A (SHENZHEN MINDRAY BIO MED ELECT) 29 Jun. 2011 (29.06.2011) the whole document	1-19
A	US 2006223137 A1 (SYSMEX CORP) 05 Oct. 2006 (05.10.2006) the whole document	1-19

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
24 Jan. 2013 (24.01.2013)

Date of mailing of the international search report
07 Feb. 2013 (07.02.2013)

Name and mailing address of the ISA
State Intellectual Property Office of the P. R. China
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao
Haidian District, Beijing 100088, China
Facsimile No. (86-10) 62019451

Authorized officer
LI, Siyuan
Telephone No. (86-10) 62085653

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2012/083864

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
EP 1746407 A2	24.01.2007	US 2007/0020721 A1	25.01.2007
		JP 2007-24844 A	01.02.2007
CN 102016573 A	13.04.2011	EP 2293062 A1	09.03.2011
		WO 2009/136573 A1	12.11.2009
		US 2011/0053212 A1	03.03.2011
		JP WO 2009/136573 A1	12.11.2009
		IN 201004184 P2	25.11.2011
CN 102016577 A	13.04.2011	EP 2280278 A1	02.02.2011
		WO 2009/136570 A1	12.11.2009
		US 2011/0053210 A1	03.03.2011
		JP WO 2009/136570 A1	12.11.2009
		JP 2012-168192 A	06.09.2012
		IN 201004185 P2	31.12.2010
CN 101389947 A	18.03.2009	WO 2007/076549 A2	05.07.2007
		JP 2009-522556 A	11.06.2009
		EP 1966588 A2	10.09.2008
CN 102109430 A	29.06.2011	US 2011/0159535 A1	30.06.2011
US 2006223137 A1	05.10.2006	EP 1715345 A1	25.10.2006
		US 7354775 B2	08.04.2008
		JP 2006-304774 A	09.11.2006
		JP 4969115 B2	04.07.2012

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2012/083864

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:

G01N 21/49 (2006.01) i

G01N 21/64 (2006.01) i

G01N 33/49 (2006.01) n

A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: G01N21/-; G01N33/-

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS、CNTXT、CNKI: 疟原虫、疟疾、散射、荧光、红细胞

VEN, ISI Web of Knowledge: malaria, impaludism, ague, paludism, swamp, fever, fluoresce+, scatter+, dispers+, red, blood

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	EP 1746407 A2 (SYSMEX CORP) 24.1 月 2007 (24.01.2007) 说明书第 26-66 段, 附图 1-16	1-19
A	CN 102016573 A (希森美康株式会社) 13.4 月 2011 (13.04.2011) 全文	1-19
A	CN 102016577 A (希森美康株式会社) 13.4 月 2011 (13.04.2011) 全文	1-19
A	CN 101389947 A (霍尼韦尔国际公司) 18.3 月 2009 (18.03.2009) 全文	1-19
A	CN 102109430 A (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司) 29.6 月 2011 (29.06.2011) 全文	1-19

☒ 其余文件在 C 栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期
24.1 月 2013 (24.01.2013)国际检索报告邮寄日期
07.2 月 2013 (07.02.2013)ISA/CN 的名称和邮寄地址:
中华人民共和国国家知识产权局
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088
传真号: (86-10)62019451授权官员

李思源
电话号码: (86-10)62085653

C(续). 相关文件

类 型	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	US 2006223137 A1 (SYSMEX CORP) 5.10 月 2006 (05.10.2006) 全文	1-19

国际检索报告

关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2012/083864

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
EP 1746407 A2	24.01.2007	US 2007/0020721 A1	25.01.2007
		JP 2007-24844 A	01.02.2007
CN 102016573 A	13.04.2011	EP 2293062 A1	09.03.2011
		WO 2009/136573 A1	12.11.2009
		US 2011/0053212 A1	03.03.2011
		JP WO 2009/136573 A1	12.11.2009
		IN 201004184 P2	25.11.2011
CN 102016577 A	13.04.2011	EP 2280278 A1	02.02.2011
		WO 2009/136570 A1	12.11.2009
		US 2011/0053210 A1	03.03.2011
		JP WO 2009/136570 A1	12.11.2009
		JP 2012-168192 A	06.09.2012
		IN 201004185 P2	31.12.2010
CN 101389947 A	18.03.2009	WO 2007/076549 A2	05.07.2007
		JP 2009-522556 A	11.06.2009
		EP 1966588 A2	10.09.2008
CN 102109430 A	29.06.2011	US 2011/0159535 A1	30.06.2011
US 2006223137 A1	05.10.2006	EP 1715345 A1	25.10.2006
		US 7354775 B2	08.04.2008
		JP 2006-304774 A	09.11.2006
		JP 4969115 B2	04.07.2012

续：主题的分类

G01N 21/49 (2006.01) i

G01N 21/64 (2006.01) i

G01N 33/49 (2006.01) n