

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200380108998.7

G01N 21/64 (2006.01)
G01N 15/14 (2006.01)
G01N 21/53 (2006.01)
G01N 21/05 (2006.01)
G01N 33/487 (2006.01)
A61B 5/00 (2006.01)

[43] 公开日 2006年2月22日

[11] 公开号 CN 1739020A

[51] Int. Cl. (续)

A61B 5/145 (2006.01)

A61B 5/15 (2006.01)

[22] 申请日 2003.11.25

[21] 申请号 200380108998.7

[30] 优先权

[32] 2002.11.26 [33] US [31] 10/304,773

[86] 国际申请 PCT/US2003/038153 2003.11.25

[87] 国际公布 WO2004/048948 英 2004.6.10

[85] 进入国家阶段日期 2005.7.20

[71] 申请人 霍尼韦尔国际公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 A·帕德马纳布汉 B·S·弗里茨
C·卡布兹

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 杨凯 陈景峻

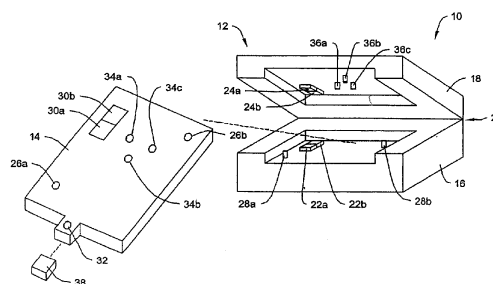
权利要求书9页 说明书24页 附图20页

[54] 发明名称

用于散射光和荧光检测的便携式流式血细胞计数器

[57] 摘要

一种设备(10)具有检测、分析和识别血液或其他所研究的流体中的散射光和多色荧光的能力。待检样品可注入一次性的微流体盒(14)中,后者可插入一个可手持的或是可植入体内的小型便携式流式血细胞计数器(10)中。该血细胞计数器(10)在生物战病原体检测、血液学、其他临床和研究领域可得到重要应用。



1. 一种设备, 其中包括:
 - 一条位于一种结构中的液流通路;
 - 5 一个靠近所述液流通路的光源装置;
 - 一个靠近所述液流通路和所述光源装置的第一光探测器装置, 其中所述光探测器装置可探测荧光。
2. 如权利要求 1 所述的设备, 其特征在于, 还包括一个靠近所述液流通路和所述光源装置的第二光探测器装置, 其中所述第二光探
10 测器装置可探测荧光。
3. 如权利要求 2 所述的设备, 其特征在于, 还包括一个将从所述液流通路发出的第一带宽的荧光定向于所述第一光探测器装置, 并将
15 将从所述液流通路发出的第二带宽的荧光定向于所述第二光探测器装置的机构。
4. 如权利要求 3 所述的设备, 其特征在于:
 - 所述光源装置发出的光束相对于所述液流通路有一个入射角;
 - 且光以与所述液流通路成某一发射角的方式发射;
 - 其中, 入射角和发射角之和可小于 120 度。
5. 如权利要求 4 所述的设备, 其特征在于, 所述液流通路中一
20 种含有荧光标示物的微粒可被来自所述光源列的光束撞击, 并因此发出被所述第一光探测器装置和所述第二光探测器装置探测到的荧光。
6. 如权利要求 5 所述的设备, 其特征在于, 还包括一个与所述第一光探测器装置和所述第二光探测器装置连接的处理器。
- 25 7. 如权利要求 6 所述的设备, 其特征在于:
 - 一旦探测到荧光, 所述第一光探测器装置和所述第二光探测器装置就向所述处理器输出一个信号; 并且
 - 接收到来自所述第一光探测器装置和/或所述第二光探测器装

置的信号后，所述处理器可提供关于所述液流通路中该种微粒的信息。

8. 如权利要求7所述的设备，其特征在于，还包括靠近所述液流通路和所述光源装置的至少一个增设的光探测器装置，其中，该至少一个增设的光探测器装置可检测所述液流通路中该种微粒的标示物发出的荧光。

9. 如权利要求8所述的设备，其特征在于，一旦探测到荧光，所述至少一个增设的光探测器装置便会向所述处理器输出一个信号。

10. 如权利要求9所述的设备，其特征在于还包括：
10 一个靠近所述液流通路的第二光源装置；
靠近所述液流通路和所述第二光源装置的另一个至少一个增设的光探测器装置。

11. 如权利要求10所述的设备，其特征在于，一旦探测到所述液流通路中微粒散射的光，所述另一个至少一个增设的光探测器装置
15 就会向所述处理器输出一个信号。

12. 如权利要求11所述的设备，其特征在于，所述结构是指一种可插入某一仪器并可从中卸下的盒。

13. 如权利要求12所述的设备，其特征在于，所述盒是一次性的。

20 14. 如权利要求13所述的设备，其特征在于，所述液流通路中的微粒是一种血液微粒。

15. 如权利要求14所述的设备，其特征在于，所述结构具有若干使光进入并到达所述液流通路并使来自所述液流通路的光射出的开口。

25 16. 如权利要求15所述的设备，其特征在于，所述开口含有光学插件。

17. 如权利要求16所述的设备，其特征在于，所述光学插件是透镜。

18. 如权利要求 15 所述的设备, 其特征在于, 所述开口是窗口。
19. 如权利要求 15 所述的设备, 其特征在于, 还包括靠近所述开口的透镜。
20. 如权利要求 14 所述的设备, 其特征在于, 所述设备是一种可佩戴在身上或是可插入体内的小型化的便携式器件。
21. 如权利要求 20 所述的设备, 其特征在于, 所述设备能佩戴在手腕上。
22. 如权利要求 21 所述的设备, 其特征在于, 所述设备含有一根能插入使用者静脉的导管。
23. 如权利要求 14 所述的设备, 其特征在于, 所述设备是一种能植入使用者体内的小型化的便携式器件。
24. 一种设备, 其中包括:
一条位于一种结构中的通路;
靠近所述通路的至少一个荧光探测器;
靠近所述至少一个荧光探测器的至少一个光源, 该光源可接近所述通路;
可靠近所述通路的至少一个散射光探测器; 以及
靠近所述至少一个散射光探测器的至少一个光源, 该光源可接近所述通路。
20. 如权利要求 19 所述的设备, 其特征在于:
所述至少一个荧光探测器、靠近所述至少一个荧光探测器的所述至少一个光源、所述至少一个散射光探测器以及所述至少一个光源包含在一台仪器中; 且
所述结构是一种可插入该仪器的盒。
21. 如权利要求 20 所述的设备, 其特征在于:
来自靠近所述至少一个荧光探测器的所述至少一个光源的光会撞击所述通路中一种微粒的标示物, 这会导致该种微粒的标示物发射荧光;

所述至少一个荧光探测器可检测来自该种微粒的标示物的荧光;

来自靠近所述至少一个散射光探测器的所述至少一个光源的光会撞击所述通路中的微粒,这会导致散射光;且

5 所述至少一个散射光探测器可检测该散射光。

22. 如权利要求 21 所述的设备,其特征在于,还包括一个处理器,所述处理器与所述至少一个荧光探测器和所述至少一个散射光探测器相连。

10 23. 如权利要求 22 所述的设备,其特征在于,还包括一个通过所述至少一个荧光探测器来选择该种微粒的标示物释放出的特定带宽的荧光而进行检测的机构。

24. 如权利要求 23 所述的设备,其特征在于,一旦检测到荧光和散射光,所述至少一个荧光探测器和所述至少一个散射光探测器就各自传送信号到所述处理器。

15 25. 如权利要求 24 所述的设备,其特征在于,所述处理器能处理来自所述至少一个荧光探测器和所述至少一个散射光探测器的信号,并提供关于该通路中的该种微粒的信息。

20 26. 如权利要求 25 所述的设备,其特征在于,该信息可包括对该种微粒的识别与分析、其速度以及该种微粒和/或类似微粒的个数。

27. 如权利要求 26 所述的设备,其特征在于,该种微粒来自于被注入到盒中的血样,该盒可插入仪器中以进行识别、分析、速度测量和/或计数。

28. 如权利要求 27 所述的设备,其特征在于所述盒是一次性的。

25 29. 如权利要求 28 所述的设备,其特征在于,所述盒是便携式的、小型化的和可佩戴的。

30. 一种用于血细胞计数的装置,其中包括:
支持微粒流的装置;

- 照射该种微粒的第一照射装置；
检测被该种微粒散射的光的第一检测装置；
照射该种微粒的第二照射装置；
检测该种微粒的标示物的发射光的第二检测装置；以及
5 处理来自所述第一和第二检测装置的信号的处理装置。

31. 如权利要求 30 所述的装置，其特征在于，包括一个支持所述第一和第二照射装置、所述第一和第二检测装置以及所述处理装置的支持装置。

32. 如权利要求 31 所述的设备，其特征在于，支持微粒流的所述装置是一个盒，可插入支持所述第一和第二照射装置、所述第一和第二检测装置以及所述处理装置的支持装置，并可从中卸下。
10

33. 如权利要求 32 所述的设备，其特征在于：
所述第一检测装置可用于检测被所述微粒散射的光；且
所述第二检测装置可用于检测由所述微粒的标示物发出的荧光。
15

34. 如权利要求 33 所述的设备，其特征在于，所述微粒来自进入所述用于支持微粒流的装置的血样，该装置可插入支持所述第一和第二照射装置、所述第一和第二检测装置以及处理装置的所述支持装置中。

- 20 35. 如权利要求 34 所述的设备，其特征在于，所述盒是一次性的。

36. 如权利要求 35 所述的设备，其特征在于，所述盒是便携式的、小型的和可佩戴的。

37. 一种用于血细胞计数的方法，包括以下步骤：
25 提供由至少一种微粒构成的微粒流；
对该至少一种微粒投射光；
分析由该至少一种微粒的一种标示物发出的第二种光。

38. 如权利要求 37 所述的方法，其特征在于还包括以下步骤：

向该至少一种微粒投射第三种光;

分析由该至少一种微粒散射的第三种光。

39. 如权利要求 38 所述的方法, 其特征在于:

5 投射一种光、分析第二种光、投射第三种光并分析第三种光的工作可由一台仪器承担; 并且

提供由至少一种微粒构成的微粒流的工作由可插入所述仪器中的盒承担。

40. 如权利要求 39 所述的方法, 其特征在于, 至少一种微粒可为血样中的微粒。

10 41. 一种设备, 其中包括:

一条液流通路;

一个靠近所述液流通路的光源;

一个靠近所述液流通路的第一光探测器;

一个靠近所述光源的第二光探测器; 以及

15 一个与所述第一和第二光探测器相连的处理器;

其中:

所述第一光探测器用于检测由所述光源发出的、被所述液流通路中的一种微粒散射的光;

20 所述第二光探测器用于检测当该种微粒与来自光源的光相撞后发出的光;

一旦检测到光, 所述第一和第二光探测器就产生信号; 且

所述处理器处理来自所述第一和第二光探测器的信号并提供关于该种微粒的信息。

42. 如权利要求 41 所述的设备, 其特征在于还包括:

25 一个包含所述液流通路的盒;

一台仪器, 包括:

所述光源,

所述第一和第二光探测器, 以及

所述处理器;

所述盒可被插入所述仪器,也可从中卸下。

43. 如权利要求 42 所述的设备,其特征在于,所述液流通路包括至少一个开口,当所述盒被插入所述仪器时,该开口与所述光源和
5 所述第一、第二光探测器大致排成一直线。

44. 如权利要求 43 所述的设备,其特征在于,所述盒是一次性的。

45. 如权利要求 44 所述的设备,其特征在于,所述至少一个开口包含至少一个靠近于它的透镜。

10 46. 如权利要求 44 所述的设备,其特征在于,所述设备是便携式的和小型化的。

47. 如权利要求 46 所述的设备,其特征在于,所述盒主要由塑料制成。

15 48. 如权利要求 46 所述的设备,其特征在于,所述盒主要由玻璃制成。

49. 如权利要求 46 所述的设备,其特征在于:

所述微粒可以是一种含有附带荧光标示物的抗体的细胞;

所述第二光探测器可以感测来自该抗体的标示物的荧光并将一个信号送到识别该种细胞的所述处理器中。

20 50. 如权利要求 49 所述的设备,其特征在于,还包括至少一个增设的荧光探测器。

51. 如权利要求 50 所述的设备,其特征在于,还包括一个用于将荧光滤波到所述第二光探测器和至少一个增设的荧光探测器中的机构,以将所述液流中多种微粒发出的不同带宽的荧光分离开。

25 52. 如权利要求 51 所述的设备,其特征在于,用以选取至少一个带宽的机构包括至少一个可调整滤波器。

53. 如权利要求 51 所述的设备,其特征在于,用以选取至少一个带宽的机构包括至少一个陷波滤波器。

54. 如权利要求 51 所述的设备, 其特征在于, 用以选取至少一个带宽的机构包括至少一个阶跃函数滤波器。

55. 如权利要求 51 所述的设备, 其特征在于, 用以选取至少一个带宽的机构包括至少一个分光镜。

5 56. 如权利要求 51 所述的设备, 用以选取至少一个带宽的机构包括一块含有波导管和特定尺寸与节距的孔以吸收/过滤特定波长的光的硅晶片/玻璃片。

57. 如权利要求 51 所述的设备, 其特征在于, 所述设备是便携式的和小型化的。

10 58. 一种设备, 其中包括:

盒中的用于流体和微粒流动的一个通路;

盒中的靠近所述通路的一个第一开口;

盒中的靠近所述通路的一个第二开口;

一台设有所述盒的插入/卸下部位的仪器, 其中包括:

15 靠近所述第一开口的第一部分的至少一个第一光源;

靠近所述第一开口的第二部分的至少一个第二光源;

靠近所述第二开口的第一部分的至少一个第一光探测器;

靠近所述第二开口的第二部分的至少一个第二光探测器; 以及
与所述至少一个第一和第二光探测器相连的一个处理器;

20 其中:

所述至少一个第一光探测器用于检测被微粒散射的来自所述至少一个第一光源的光;

所述至少一个第二光探测器用于检测微粒被来自所述至少一个的第二光源的光撞击后发出的光;

25 一旦检测到光, 所述第一和第二光探测器就传送信号到所述处理器; 且

所述处理器将该信号转换为关于这些微粒的信息。

59. 如权利要求 58 所述的设备, 其特征在于, 所述通路发出的

光是荧光，来自与白细胞相关的抗体的标示物。

60. 如权利要求 59 所述的设备，其特征在于，所述第一和第二开口包含光学插件。

61. 如权利要求 60 所述的设备，其特征在于，所述第一和第二
5 开口的第二部分的光学插件是透镜。

62. 如权利要求 59 所述的设备，其特征在于，还包括靠近所述第一和第二开口的透镜。

63. 如权利要求 62 所述的设备，其特征在于，所述盒是一次性的。

10 64. 如权利要求 63 所述的设备，其特征在于，所述盒主要由塑料制成。

65. 如权利要求 63 所述的设备，其特征在于，所述盒主要由玻璃制成。

15 66. 如权利要求 63 所述的设备，其特征在于，所述设备是便携式的和小型化的。

67. 如权利要求 66 所述的设备，其特征在于，所述设备是可佩戴的。

用于散射光和荧光检测的便携式流式血细胞计数器

5 本发明申请属于 2000 年 8 月 2 日提出的、美国专利申请序号为 09/630, 924 的专利申请的部分延续申请, 并请求该专利申请的权益。

对相关同时待决申请的交叉引用

本申请与如下同时待决美国专利申请相关: 1. 序号为 09/630, 927、发明人为 Cabuz 等、申请日为 2000 年 8 月 2 日、标题为“用于流式血细胞计数的光学检测系统”; 2. 序号为 09/630, 924、发明人为 Cabuz 等、申请日为 2000 年 8 月 2 日、标题为“便携式流式血细胞计数器”; 3. 序号为 09/630, 923、发明人为 Cabuz 等、申请日 2000 年 8 月 2 日、标题为“用于流式血细胞计数的流体驱动系统”; 4. 序号为 09/896, 230、发明人为 Fritz、申请日为 2001 年 6 月 29 日、标题为“用于流式血细胞计数的光学检测系统”; 5. 序号为 09/404, 560、发明人为 Cabuz 等、申请日为 1999 年 9 月 23 日、标题为“用于比例压力或流量控制的可寻址阀阵列”, 本申请以参照方式结合上述专利申请的全部内容。

20

背景技术

本发明一般涉及流式血细胞计数器, 更确切的说, 本发明与感应液流之中的微生物颗粒或成分的光学特性的便携式流式血细胞计数器相关。

流式血细胞计数是一种通过感应微生物颗粒或成分的特定光学性能来确定这些颗粒或成分的某些物理或化学性能的技术。为了实现这个目的, 例如, 在一种鞘液内使用液动式聚焦手段把微粒排列成一个纵列。然后, 这些微粒被一束光束进行逐个查询。每个微粒将光束进行散射, 并产生一个散射特性。通常通过测量在不同散射

角处的光强度来辨识微粒的散射特性。然后，可以从散射特性中确定每个微粒的特定物理和/或化学特性。

5 流式血细胞计数目前被广泛用于许多种不同应用之中，这里仅试举几例：血液学、免疫学、遗传学、食物科学、药学、微生物学、寄生虫学和肿瘤学。许多商业化的流式血细胞计数器的一个局限在于它们是相当大的台式设备，它们必须保持在中央试验室的环境中。因此，那些流式血细胞计数器通常不能远距离使用或是被用于连续的血液学监测。

10

发明内容

本发明通过提供一种可远距离使用于家中或野外等场所的小型便携式和可佩戴的流式血细胞计数器，克服了之前同类产品的许多弊端。那样的一种流式血细胞计数器通过为个人提供详尽的血液评估和揭示统计趋势，有助于提高对患者的医疗水平。通过

15 在早期监测出某种感染，该种感染可能更易进行治疗。

在军事应用方面，本发明的便携式小型流式血细胞计数器通过在早期便检测出由生物病原体引起的感染，能够挽救许多人的生命。我们知道生物科学的日益活跃增大了人们意外接触危险的生物病原体的可能性。因为这些病原体易于制造，由此便产生了它们可能被恐怖分子、地区势力或是发展中的第三世界国家滥用的严重威胁。

20 国际公约虽然宣称生物战不合法，但缺少有效的监控机制来防范它们，同时强有力的证据表明这些国际公约可能被违反，这便进一步增强了对掌握强大的生物防御能力的需求。在生物战中，在接触病原体之前便检测出相关病原体，或是在感染早期检测出病原体，这两种手段可以结合使用，以确保对人体进行有效的防护。

25

作为人体抵御抗原的组成部分，白细胞数量在感染开始时会增加。人体内存在几种白细胞，包括中性粒细胞，淋巴细胞，单核细胞，嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞。淋巴细胞产生抗体来攻击入侵

者，并标示物它们，使它们能被中性粒细胞和巨噬细胞消灭。在未经慢性疾病(如肺结核和癌症)感染的人体内，淋巴细胞在整个白血球细胞中的百分比含量增加表明发生了病毒性感染。另一方面，中性粒细胞在整个白血球细胞中的百分比含量增加表明细菌性感染正在发展之中。通过计算中性粒细胞和淋巴细胞的数量，可以发出明确的感染警告，并能区分这是病毒性感染还是细菌性感染。

感染某些细菌性病原体如炭疽杆菌的第一临床症状在 1 到 6 天后出现。在 99%的情况下，出现症状的炭疽热患者无法救治，绝大部分都会死亡。然而，如果能在第一症状出现之前施治，绝大部分病人便能被治愈。因此，在症状出现之前便能产生早期警示并对血液中的异常进行诊治无疑是十分理想的。在许多情况下，那种早期警示和诊治可以改善对很多患者的诊治结果。

在本发明的一个说明例中，提供了一种便携式小型流式血细胞计数器来识别和/或计算例如血样本的一个流体样品中的选定微粒数量。一个示意性的小型便携式流式血细胞计数器包括用于接收流体样品的一个流体接收器。此外，它还提供了一个或多个库来贮存如溶剂和鞘液之类的辅助性流体。在许多商业化的流式细胞系统中，提供了一个精确流体驱动系统以便为各流体提供精确的压力。这种方法的一个局限在于，精确流体驱动系统可能较为庞大、复杂且可能还需要相当多的电能。

为了避免以上这许多局限，一个说明例中采用了一种通过闭环反馈路径进行控制的非精确流体驱动器。该非精确流体驱动器被与流体接收器和各种辅助性流体库相结合，并分别施加压力到样本流体和各个辅助性流体。为了控制样本流体和辅助性流体的速度，一个或多个阀门被与流体驱动器连接。这些阀门被用来控制通过非精确流体驱动器施加到样本流体和辅助性流体的非精确压力。

为了完成反馈环路，在流体驱动器下游提供了流量传感器来测量样本流体和辅助性流体的流体速度。一个控制器或处理器接收来

自流量传感器的信号，并调节合适的阀门，以达到想要的样本流体和辅助性流体的流体速度。流量传感器最好是热风速表型的流量传感器。

5 在一个说明例中，非精确流体驱动器是用人工提供动力的。一个
人工提供动力的流体驱动器可包括，如，一个带止回阀的球状物
或一个柱塞。在任一种情况下，人工产生的压力最好被施加到第一
压力室中。然后，设置第一阀门来将第一压力室中的压力有控制地
10 释放到第二压力室。第二压力室可设有第二阀门来将第二压力室中
的压力有控制地排放出去。当下游流体中的流体流量下降到第一预
定值之下时，控制器开启第一阀门，当下游流体中的流体流量增加
到第二预定值之上时，控制器开启第二阀门。每个阀门最好是一个
15 能够被各自单独寻址和控制的静电驱动微阀阵列。

上述受控的样本流体和辅助性流体被供给一个流体回路，该流
体回路进行流体动力聚焦，使得目标微粒沿被一种鞘液包围的核心
15 流形成一个单一队列。一个或多个光源或光源装置提供透射该液流
的光，并且一个或多个光探测器或光探测器装置检测该液流中微粒
的散射特性和荧光。一个装置可能包含一个或多个光源和/或一个或
多个光探测器。一个装置可能包含单一的光学器件或元件，或是这
样的器件或元件的阵列。一个处理器模块采用来自光探测器的信号
20 来识别和/或计算核心流中微粒的数量。

该小型便携式流式细胞计可能被装在一个足够小的外壳中，以
让人舒适佩戴。在一个说明例中，该外壳尺寸形如一块手表。该可
佩戴的外壳可包括，如一个基板、一个盖板和将基板固定到盖
板上的铰链。非精确流体驱动器和控制阀可以被集成到盖板上，而
25 贮液库、流量传感器和流体回路可被集成到一个插入到外壳中的可
更换盒中。流体回路最好进行稀释血样，红细胞溶解和流体动力聚
焦来形成流体流动和核心流。光源最好位于基板或盖板之中，并与
可卸除盒的液流排成一直线。光探测器最好与光源相对布置。处理

器和电池可布置在外壳的基板或盖板上。

上述光源可能包括一个或一个线型列的沿第一光源轴排列的第一光源。该第一光源轴可以相对液流的中心轴进行旋转。在每个光源附近可能放置一个透镜以将光聚焦于核心流中的微粒上。之后，
5 单个光探测器或是成组的光探测器与光源或是每个光源成直线布置。那样一种配置可以用来确定，例如，液流中核心流是否对准和其宽度。如果核心流的微粒没有被对准，控制器便会调整样本流体或是辅助性流体的速度来将核心流对准。上述光探测器或成组光探测器也可被用来检测每个微粒的速度和大小，以及这些微粒的数量。

10 沿第二光源轴可以布置另外的光源或成组光源。在每个光源附近可能放置一个透镜以将光聚焦于核心流中的微粒上。之后，第二单个光探测器或是成组的光探测器被放置在每个光源的直列位置的任一侧，以测量中选定微粒产生的小角度散射（SALS）。

上述第二光源或成组光源也可与第一成组光源结合使用来确定
15 液流中微粒的飞行时间（time-of-flight）或速度。通过获知微粒速度，控制器可以将由流体驱动器造成的微小流速变化控制在最小范围或是将其消除。

沿一个第三光源轴可设置一个第三光源或成组光源。在每个光源附近可以放置一个透镜以便为液流提供平行光。正对光源或光源组可能放置一个或多个环形光探测器，以测量液流中选定微粒产生的前向角散射（FALS）。每个第一、第二、第三光源或成组光源可
20 包括一系列激光器，如在一个共同衬底上制造的垂直腔面发射激光器（VCSEL）。每个第一、第二、第三光探测器或成组光探测器可能包括一只或一系列光电光探测器，如 p-i-n 光电二极管、具有集成场效应晶体管（FET）电路的砷化镓光电二极管、共振腔型光电光探测器
25（RCPD）或其他任何合适的光探测器。

上述选定的微粒最好为中性粒细胞和/或淋巴细胞等白细胞。通过检查每个微粒的散射特性，本发明的小型便携式流式血细胞计数

器识别一份血样中的中性粒细胞和淋巴细胞，并对它们进行计数，从而提供一个明确的感染警示，并能区分这是病毒性感染还是细菌性感染。

5 本发明的另一部分使用荧光来进一步识别和分析不同的白细胞。抗体可以与不同的白细胞相关联。抗体本身附有标示物或标签。这些白细胞可以与光发生碰撞，使得与它们相关的标签或标示物产生荧光并对外发光。这种光可以被收集起来，还可以根据需要进行过滤，并被传送至一个或多个光电光探测器。这种检测手段可被用来从其他物质中识别和监控特定子类的白细胞和基于血的蛋白质。

10 总之，所述的小型化便携式流式血细胞计数器具有两个光学检测子系统，即散射光系统和荧光系统。它还具有一个低功率的电子系统、一个紧凑的流体驱动系统，并可能使用直接的/未经处理的血样和一次性的微流体盒。

15 附图的简要说明

查阅如下与附图相关的详细信息有助于更好的理解本发明的其他目的和附带的许多其他优点。这些附图中，用彼此之间相类似的标号来标识各个装置之间相类似的部分：

图 1 是本发明的一个示意性便携式血细胞计数器的透视图；

20 图 2 是图 1 中便携式血细胞计数器的示意图；

图 3 是图 2 中便携式血细胞计数器盖板尚未压下时的详细示意图；

图 4 是图 2 中便携式血细胞计数器盖板已压下时的详细示意图；

25 图 5 是具有一个球状物和一个止回阀的人工流体驱动器的示意图；

图 6 是表示一个可寻址列的微阀的比例压力控制的曲线；

图 7 是表示通过图 3 中流体动力聚焦模块 88 形成液流的过程的示意图；

图 8 是表示用以分析图 7 中核心流的一列光源和一系列光探测器的示意图;

图 9 是表示沿图 8 中光源轴所产生的光强度的曲线;

图 10 是表示图 8 中的示意性光源和光探测器对的示意图;

5 图 11 是表示三列彼此独立的光源和光探测器的示意图, 其中每一列沿相对于图 7 液流的中央液流轴略作旋转的一条不同的光源轴进行配置;

图 12 是表示图 11 中所示的第一列的一个示意性光源和光探测器对的示意图;

10 图 13 是表示图 11 中所示的第二列的一个示意性光源和光探测器对的示意图;

图 14 是表示图 11 中所示的第三列的一个示意性光源和光探测器对的示意图;

15 图 15 是一种适于佩戴在手腕上的一种小型血细胞计数器的说明例的透视图;

图 16 说明了一种集成了散射光和荧光光学子系统的小型血细胞计数器盒;

图 17 示出了对散射光和荧光探测系统的布置;

图 18 是血液层次结构图, 强调了施加血细胞计数器的区域;

20 图 19a 和图 19b 示出了与所研究的细胞或细菌相关的抗体和标示物的结构;

图 20 示出了光与用于荧光系统的光学器件的相互作用;

图 21a、21b、21c、21d、21e 分别示出了与用于散射光和荧光系统的液流导槽相关的光学结构;

25 图 22 表示散射光和荧光探测系统的布置, 具有与液流导槽分开的离散的透镜;

图 23 是具有散射光和荧光系统且适于佩戴在人手腕上的小型便携式血细胞计数器的一个说明例的透视图。

详细说明

图 1 是本发明的一个示意性小型便携式血细胞计数器的透视图。该血细胞计数器通常显示为 10，并包括一个外壳 12 和一个可拆卸或可替换的盒 14。该示意性外壳 12 包括一个基板 16、一个盖板 18 和一个将基板 16 连到盖板 18 上的铰链。基板 16 包括光源 22a 和 22b，以及 5 与操作血细胞计数器相关的光学设备和必要的电子设备。盖板 18 包括一个人工加压单元、具有控制微阀的压力室和具有相关光学元件的光探测器 24a 和 24b。

10 可拆卸的盒 14 最好通过一个样本收集端口 32 来接收样本流体。当可拆卸的盒 14 没有被使用时，一个端盖 38 可以被用来保护样本收集端口 32。可拆卸的盒 14 最好进行血液稀释、红细胞溶解和用于形成核心流的流体动力聚焦等工作。可拆卸的盒 14 可以制作得与 Micronics Technologies 公司的流体回路相似，后者有一部分用 15 具有蚀刻沟槽的薄板结构制成。

当盖板 18 处于打开位置时，可拆卸结构或盒 14 被插入到外壳中。可更换盒 14 可包含基板 16 上接受定位销 28a 和 28b 的孔 26a 和 26b，这将有助于设备不同部分之间的对准和配合。同样，可更 20 换盒 14 最好包括透明的液流窗 30a 和 30b，它们与光源列 22a 和 22b 以及光探测器 24a 和 24b 排成一直线。当盖板被移动到闭合位置，并且系统受到压力时，盖板 18 分别通过压力供给端口 36a、36b、36c 给压力接受端口 34a、34b、34c 提供受控压力。

为开始进行测试，盖板 18 被拉起，同时一个新的可更换盒 14 被放置并对准在基板 16 上。一份血样被引入到样本采集器 32 中。 25 盖板 18 被闭合，且系统受到人工按压。只要受压后，该设备便进行了一次白细胞计数测量。可更换盒 14 提供用以形成核心流的血液稀释，红细胞溶解以及流体动力聚焦等工作。光源 22a 和 22b、光探测器 24a 和 24b 以及相关的控制和处理电子装置，在光散射荧光信号

的基础上进行白细胞种类区分和计数工作。除了将铰接结构用于外壳 12 以外，还可以采用滑动式盒槽或其他任何合适的结构。

5 图 2 是图 1 中示意性血细胞计数器的示图。如上所述，基板 16 可以包括光源 22a 和 22b，以及用于操作血细胞计数器的相关的光学元件和必要的控制和处理电子装置 40。基板 16 也可以包括为血细胞计数器供电的电池 42。如图所示，盖板 12 具有一个人工按压单元 44，和带控制微阀的压力室 46a、46b、46c，以及具有相关光学元件的光探测器 24a 和 24b。

10 可更换盒 14 可以通过采样端口 32 来接收样本流体。当受到盖板 18 按压时，可更换盒进行本器件中的核心形成的血液稀释、红细胞溶解和流体动力聚焦等操作。核心一旦形成，便会沿一条液流路径 50 向下流动，并流经图 1 中的液流窗 30a 和 30b。基板上的光源 22a 和 22b 以及相关的光学元件通过液流窗 30a 和 30b 将光通过和送至核心流。光探测器 24a 和 24b 以及相关光学元件同样通过液流窗 30a 和 30b 分别接收来自核心流的散射光和非散射光。控制器或处理器 40 接收来自光探测器 24a 和 24b 的信号，同时区分和识别核心流中选定的白细胞并进行计数。

15 可考虑在可更换盒 14 上设一个用来帮助控制各流体速度的流体控制模块 48。在本说明例中，流体控制模块 48 包括用来感知不同流体速度的流量传感器，并将速度告知控制器或处理器 40。控制器或处理器 40 然后调整与压力室 46a、46b、46c 相关的微阀以达到所要的压力，从而取得正常操作血细胞计数器所要的流体速度。

20 因为血液和其他生物废料能传播疾病，可更换盒 14 最好在液流窗 30a 和 30b 下游有一个废料库 52。废料库 52 接收和储存可更换盒 14 的液流中的流体。当一项测试完成后，可更换盒可拆下并最好丢弃在一个与生物废料兼容的容器中。

图 3 是更详细的示意图，示出了当盖板 18 没有被按下时图 2 中的血细胞计数器。图 4 是一张更详细的示意图，示出了当盖被按下

时图 2 中的血细胞计数器。如图所示，盖板 18 具有一个人工按压单元 44、压力室 46a、46b、46c 和通常处于 60 所示位置的控制微阀。在这些图中，没有示出光源和光探测器。

5 有三个压力室 46a、46b 和 46c，每一个室用于传送压力给一种流体。在本说明例中，压力室 46a 将压力传送给一个血样库 62，压力室 46b 将压力传送给一个溶解 (lyse) 库 64，压力室 46c 将压力传送给一个鞘液 (sheath) 库 66。每个压力室 46a、46b 和 46c 的尺寸和形状都可以被进行调整，以传送所要的压力特性给对应的流体。

10 压力室 46a 包括一个第一压力室 70 和一个第二压力室 72。在第一压力室 70 和第二压力室 72 之间设有第一阀门 74，以将第一压力室 70 中的压力有控制地释放到第二压力室 72。一个与第二压力室 72 流体连通的第二阀门 76 有控制地将第二压力室 72 中的压力排放出去。每个阀门最好是由一系列可单独寻址和控制的静电驱动的微阀组成，如美国专利申请序号为 09/404, 560，标题为“用于比例压力或
15 流量控制的可寻址阀门阵列”的同时待决申请中所述（本申请以参照方式结合该申请）。压力室 46b 和 46c 具有相似的阀门来分别控制传送到溶剂库 64 和鞘液库 66 的压力。此外，每个阀门还可以由一系列具有可控工作循环来进行脉冲调制的静电启动微阀组成，以取得受控的“有效”流量或泄漏速率。

20 可更换盒 14 具有从盖板 18 接收受控压力的压力接受端口 34a、34b 和 34c。如图所示，受控压力被传送到血液库 62、溶剂库 64 和鞘液库 66。溶剂库 64 和鞘液库 66 最好在可更换盒 14 被装上使用之前便已被灌注而血液库 62 从采样端口 32 灌注。一份血样被传送到采样端口 32，并通过毛细管作用，被吸入血液库 62。一旦血样到
25 了血液库 62，盖板 18 便可被闭合，系统也可以开始受压工作。

在进行流体动力聚焦前，一个流量传感器设置成与每种流体排成一直线。每个流量传感器 80、100 和 102 可测量对应流体的速度。流量传感器最好是热式风速计型流量传感器，尤以微桥型

(microbridge) 流量传感器为佳。微桥型流量传感器如美国专利号 4478076、4478077、4501144、4651564、4683159、5050429 等所述(上述专利均以参照方式结合于本申请)。来自每个传感器 80、100、102 的输出信号被传送到控制器即处理器 40。

5 当血样的速度下降到一个第一预定值之下时，控制器或处理器 40 打开第一阀门 74，当血样的速度增加到一个第二预定值之上时，它打开第二阀门 76。阀门 84、86、94 和 96 以类似的方式工作以控制溶剂和鞘液的速度。

10 在操作过程中，为了给系统提供压力，人工按压单元 44 被按下。在图示的实例中，人工压力单元 44 包括 3 个柱塞，且每个柱塞进入对应的第一压力室中。柱塞在第一压力室中建立一个相对高的非精确压力。通过开启第一阀门 70、84 和 94，在第二压力室形成较低的受控压力，这便创造了一条进入第二压力室的可控压力泄漏导槽。如果在第二压力室中产生了过高的压力，相应的排出阀 76、86 和 96
15 便被开启以减小压力。

当盖板 18 闭合时，常开的第一阀门 74、84 和 94 闭合，而排出阀 76、86 和 96 开启。当第一压力室中压力达到一个预定压力 P 时，排出阀 76、86 和 96 闭合，而第一阀门 74、84 和 94 被打开以在第二压力室中形成一个较低压力 P' 。第二压力室中的受控压力为可更
20 换盒 14 的流体回路提供了必要的压力，以形成血液、溶剂和鞘液的液流。然后，通过下游的流量传感器 80、100 和 102 来测量液流速度。每个流量传感器产生一个输出信号，该信号被控制器或处理器 40 用来控制相应的第一阀门和排出阀的操作，以为每种流体提供一个理想且恒定的速度。

25 也可设置通常显示在 110 处的下游阀门。控制器或处理器 40 也可将下游阀门 110 关闭，直到系统受压时为止。这可以防止血液、溶剂和鞘液在回路受压之前便流入流体回路。在本发明的另一说明例中，当盖板被闭合时，下游阀门 110 通过机械作用打开。

图 5 是示意图，示出了具有一个球状物 100 和一个止回阀 102 的示意性的人工流体驱动器。止回阀 102 最好是一种允许空气进入第一压力室 104 但不允许它从其中流出的单向阀。当球状物 100 被按下时，其内部 106 的空气被迫穿过止回阀 102 而进入第一压力室 104。最好提供另一个单向排液阀 105，以使大气中的空气进入球状物 100 的内部 106，却不能从其中流出。于是，当球状物释放时，单向排液阀 105 便可让替换空气流入球状物 100 的内部。

也可不使用人工操作的流体驱动器，而考虑使用任何相对小的压力源，包括一种静电驱动的中间泵。在美国专利号为 5836750、发明人为 Cabuz 的专利文献中有对这种中间泵的描述，该专利以参照方式结合于此申请。

图 6 示出了通过一个可寻址的 8×7 微阀阵列进行比例压力控制的情形。为了产生图 6 中所示的曲线，6.5 磅/平方英尺的压力被加到第一压力室 120。在第二压力室 122 处设有一个小开口，微阀如图中 124 所示，它们将第二压力室 122 中的压力排出。通过改变闭合的可寻址微阀数目，可以改变和控制第二压力室中的压力。如该曲线图所示，第二压力室 122 中的压力可以从当 8×7 微阀阵列中没有阀门闭合时的 0.6 磅/平方英尺变到当所有 8×7 微阀阵列中的阀门闭合时的 6.5 磅/平方英尺。这些低功率的、微机械加工的硅质微阀可用来控制直到 10 磅/平方英尺或更大的压力。

图 7 是示意图，示出了通过图 3 中的流体动力聚焦功能块 88 来形成液流和核心流的情形。流体动力聚焦功能块 88 以受控的速度从流体驱动器接收血液、溶剂和鞘液。血液被与溶剂相混合，这导致红细胞被除去。溶液的 pH 值比红细胞低。这常被称为红细胞溶解或溶剂闲置 (lyse-on-the-fly)。剩下的白细胞向下通过一个被鞘液包围的中心腔 150 来产生液流 50。液流 50 包括一条被鞘液 152 包围的核心流 160。如图所示，导槽的尺寸被减小，以使得白细胞 154 和 156 成单列排列。鞘液的速度最好约为核心流速度的 9 倍。然而，

鞘液和核心流的速度应当保持足够低，以维持在液流导槽中的层流。

光发射器 22a 和 22b 以及相关的光学元件最好相邻地设在液流 50 的一侧。光探测器 24a 和 24b 以及相关的光学元件被配置在液流 50 的另一侧，以透过液流 50 接收来自光发射器 22a 的光和来自发射荧光的微粒的光。光探测器 24a 和 24b 的输出信号被传送到控制器或处理器 40，在该处进行分析以识别核心流 160 中选定的白细胞和/或计算其数量。

图 8 是示意图，示出了通过图 7 中的散射来分析核心流 160 的一列光源 22a 和一系列光探测器 24b。光源在图中用“+”表示，而光探测器位于方框处。在所示的实例中，光源列与液流 50 的一侧相邻，而光探测器列与液流的对侧相邻。每个光探测器最好与其相应的光源对准。如图所示，光源列和光探测器列沿一个相对于液流 50 轴线 202 略作旋转的光源轴线 200 配置。

光源列 22a 最好是一列激光器，例如在一个共同的衬底上制造的垂直腔面发射激光器 (VCSEL)。由于它们垂直发射激光，VCSEL 非常适于封装在紧凑型设备如小型便携式血细胞计数器中。那样的血细胞计数器能佩戴在身上。所用的 VCSEL 最好是工作于波长少于传统的 850nm 的“红色” VCSEL，尤以波长范围处于 670nm 到 780nm 之间的为佳。红色 VCSEL 可具备非常适于散射光测量的波长、功率和极化特性。

某些现有技术的台式血细胞计数器采用一种单一的发射激光波长为 650nm 的边缘发射激光器。光束被聚焦到 10×100 微米的拉长形状，以补偿由于核心流没有对准和其宽度所造成的微粒位置的不确定性。与此相比，对于 10×10 微米发射器和 100 微米间距的布置，本发明的工作于 670nm 波长的红色 VCSEL 输出功率通常在 1mw 左右。因此，来自一个 10 个红色 VCSEL 的线性光源列的光强度可与现有技术中的某些同类产品的大体相同。

使用一个线性列的相对于液流轴 202 成某一角度的激光器与之

前采用单一光源相比具有一些重要的优点。例如，一个线性列的激光器可以被用来确定核心流中微粒导槽的水平对准情况。造成微粒流对准存在不确定性的一个原因是核心流的宽度，这导致微粒导槽位置出现统计性波动。这些波动可以从对光探测器数据的分析中确定，且能被控制器或处理器 40 用来调节流体驱动器的阀门，以改变加于样本流体和辅助性流体的相对压力，来改变液流中选定微粒的对准情况。

为了确定液流 50 中细胞的水平对准情况，细胞通过几个由 VCSEL 线性列产生的聚焦光点。这些细胞造成了相应的与其成一直线的参考光探测器中信号强度的下降。信号的相对强度被控制器或处理器 40 用来确定微粒导槽的中心和对微粒宽度进行测量。为了确定微粒导槽和其尺寸，激光器列 24 最好聚焦于核心流平面中的一系列高斯光点 214（光强度为 $1000\text{W}/\text{cm}^2$ 数量级）。光点 214 最好约与白细胞大小相同（ $10\text{-}12\ \mu\text{m}$ ）。示意性的高斯光点如图 9 所示。光探测器列 24a 和它们的聚焦光学元件被配置在液流 50 的对侧。采用的透镜具有较大的 F 数，以便为可更换盒的血细胞计数器部分提供一个几百微米的工作空间。

采用一线性列的激光器 22a 而不是采用单个激光器结构的另一个优点是可以确定每个细胞的速度。微粒速度在从光散射信号中估计微粒尺寸的过程中是一个很重要的参数。在传统的血细胞计数法中，微粒速度是从泵的流速外推得出的。这种方法的局限在于泵必须很精确，血细胞计数器液流室的公差须严格控制，不能出现如泄漏之类的流体故障，并且不能引入干扰液流和核心流形成的微泡。为了确定每个细胞的速度，系统可以测量每个细胞通过相邻或连续的两点所需时间。例如，见图 8，一个细胞可以通过光探测器 208，然后通过光探测器 210。通过测量细胞从光探测器 208 移动到光探测器 210 的所需时间，并通过得知光探测器 208 与光探测器 210 之间距离，控制器或处理器 40 可计算出细胞的速度。这会是一种近似的

速度测量。以上通常被称为飞行时间测量法。速度一旦被获知，就可由通过该微粒中心所在的点所需的时间（几微秒）求得微粒长度和尺寸的量度。

5 微粒速度被认为还可用来帮助控制流体驱动器。为了减小本发明装置的大小、成本和复杂程度，图 1 中的可替换盒可以用塑料层叠或模压件制造。尽管那样的生产工艺可以提供较便宜的部件，这些部件的尺寸通常较不准确和较不具有可重复性，因为它们具有非对称尺寸和较大公差的横断面。这些较大的公差可能造成微粒速度发生变化，特别是使用不同盒时更会如此。为了补偿这些较大公差
10 所产生的后果，以上所述的飞行时间测量可被控制器或处理器 40 用来调节加到血液、溶剂和鞘液上的受控压力，从而使得核心流中微粒具有相对稳定的速度。

为进一步评估细胞大小，可以考虑将激光束沿着或横越细胞路径进行聚焦。除此之外，可以分析穿越一个细胞的多份样本来确定
15 其结构特征，并将形态学特征与其他细胞类型关联起来。这种做法可以提供关于细胞大小的多个参数，并有助于将各种细胞类型彼此区分开。

使用一个线性列的激光器 22a 而不是使用单个激光器结构的另一优点在于在穿越液流导槽时可以提供相对稳定的光照度。如图 9
20 所示，这是通过将来自相邻 VCSEL 的高斯光束进行重叠实现的。在现有技术的单一激光器系统中，穿越液流导槽的光照度往往随着穿越导槽位置的不同而发生变化。因此，如果一个微粒没有处于液流导槽的中心位置，随后的测量精度便会降低。

为了进行上述测量，图 8 中每个光探测器 24a 可以是单个的直
25 线上 (in-line) 光探测器。然而，为了测量前向角散射 (FALS) 和小角散射 (SALS)，每个光探测器 24a 还要包括两个设在线上光探测器附近的环形光探测器，如图 10 所示。参考图 10，一只 VCSEL 沿向上的方向发光。光是通过一个透镜 220 发出的，后者将光聚焦于处于

核心流平面的一个高斯光点。透镜 220 是一种微透镜或类似的装置，它或者与 VCSEL 218 分开，或者与之集成。光通过核心流，并被另一个透镜 222 例如一种衍射光元件接收。透镜 222 将光传送至线上光探测器 226 和环形光探测器 228 和 230。线上光探测器 226 检测没有被核心流中的微粒显著散射的光。环形光探测器 228 检测前向角散射 (FALS) 光，环形光探测器 230 检测小角散射 (SALS) 光。

图 11 示出了包括三列彼此独立的光源和光探测器的本发明的另一说明例。每一列光源和光探测器沿一个相对于液流的中心液流轴略作旋转的不同的轴线配置。通过使用三列光源和光探测器，与每列相关的光学元件可以为某一特殊应用或功能而优化。为了检测小角散射 (SALS)，采用正好聚焦于核心流平面的激光比较理想。为了检测前向角散射 (FALS)，采用经准直的光比较理想。

特别参考图 11，一个第一列的光源和光探测器位于 300 处。光源和光探测器被沿第一光源轴配置成一线性列。第一光源轴相对于液流的液流轴作了旋转。光源和光探测器可能与上述图 8 的光源和光探测器相类似，并最好被用来测量，例如，液流中细胞的水平对准、微粒大小以及微粒的速度。

图 12 是示意图，示出了图 11 中的第一列 300 的一个示意性光源和光探测器对。如图所示，一只 VCSEL 302 沿向上的方向发光。光通过一个透镜 304 发出，光被聚焦成核心流平面上的一个高斯光点。该光透过核心流，被另一透镜 306 接收。透镜 306 将光传送至线上光探测器 308。线上光探测器 308 检测没有被核心流中的微粒显著散射的光。

如图所示，一个第二列光源和光探测器位于 310 处。其光源沿一个相对于液流的液流轴略作旋转的第二光源轴配置。其光探测器包括三个线性列的光探测器。一列光探测器与上述光源线性列成直线配置。另外两个线性列的光探测器被配置在处于直线上的光探测器列的任意一侧，并且被用来测量由液流中选定微粒产生的小角散

射。

图 13 是示意图，示出了图 11 中的第二列的一个示意性的光源和与之对应的光探测器。如图所示，一只 VCSEL 320 沿向上的方向发光。光是通过一个透镜 322 发出的，光被聚焦成核心流平面上的一个高斯光点。光透过核心流，并被另一只透镜 324 如一种衍射光元件 324 所接收。透镜 324 将光传送至线上光探测器 326 和与之相对应并被放置于线上光探测器 326 任一侧的两个光探测器 328 和 330。

线上光探测器 326 可被用来检测没有被核心流中的微粒显著散射的光。因此，第二列 302 的线上光探测器线性列可以被用来进行与第一列 300 的线上光探测器列相同的测量。这两列线上光探测器列的测量结果可以被进行比较，也可以被结合起来，以得到一个更为准确的结果。另外，或者除此之外，第二列 302 的线上光探测器可以被用作一组冗余的光探测器以提高血细胞计数器的可靠性。

也可以考虑将第二列 302 的线上光探测器与第一列 300 的线上光探测器结合使用来更准确测定液流中微粒的飞行时间或速度。这种测量结果可以更精确，因为光探测器之间的距离可以更大。如上所示，通过得知微粒的速度，由流体驱动器造成的流速上的微小变化便可由控制器最小化或消除。

图 13 中的光探测器 328 和 330 被用来测量由液流中选定微粒产生的小角散射 (SALS)。因此光探测器 328 和 330 最好与线上光探测器 326 留有足够的间隔来截取由液流中的选定微粒产生的小角散射 (SALS)。

再来看图 11，一个第三列光源和光探测器 350 最好被用来测量由液流中选定微粒产生的前向角散射 (FALS)。这些光源被沿一个相对于液流的液流轴旋转的第三光源轴配置成一个线性列。每个光源最好具有一只相对应的光探测器。每个光探测器最好呈环形，并且其中央配置有一个非敏感区域或是一只独立的线上光探测器。这些

环形光探测器最好被调整大小，以截取和检测由液流中选定微粒产生的前向角散射(FALS)。

5 图 14 是一张示意图，示出了图 11 中的第三光源和光探测器列 350 的一个示意性的光源和光探测器对。如图所示，一只 VCSEL 360 沿向上的方向发光。光通过透镜 362 例如一种提供基本准直的光的准直透镜发出，该准直透镜将高度平行的光送至核心流。如上所示，平行光对检测前向散射光是较为理想的。光通过核心流，并被另一透镜 364 接收。透镜 364 将接收到的光传送至环形光探测器 368。

10 环形光探测器 368 的大小最好确定成能截取和检测由液流中微粒产生的前向角散射(FALS)。在环形光探测器 368 的中央，可设置一个非敏感区或一个独立的线上光探测器 370。如果提供的是一个独立的线上光探测器 370，它便可以被用来提供与第一列 300 和/或第二列 302 的线上光探测器相同的测量结果。当这样设置时，来自第一列 300、第二列 302 和第三列 350 的所有线上光探测器列的测量结果可以被进行比较或是被结合起来以得到一个更加准确的结果。第三列 350 的线上光探测器可作为另一层次或冗余以提高血细胞计数器的可靠性。

20 也可以考虑将第三列 350 的线上光探测器与第一列 300 和/或第二列 302 的线上光探测器结合使用来更准确地测定液流中微粒的飞行时间或速度。这种测量结果可以更精确，因为光探测器之间的距离可以更大。如上所示，通过得知微粒的速度，由流体驱动器造成的流速上的微小变化便可被控制器最小化或消除。

25 通过使用三列独立的光源和光探测器，与其中每列相关的光学元件可为所想要进行的应用而优化。可以看出，与第一列 300 相关的光学元件被设计用来将聚焦良好的激光投射到核心流平面上。这将有助于为第一列 300 对调准、微粒大小和微粒速度等进行的测量提供分辨能力。同样的，与第二列 302 相关的光学元件被设计用来将聚焦良好的激光投射到核心流平面上。聚焦良好的光对于测量由

液流中的选定微粒产生的小角散射是比较理想的。最后，与第三列 350 相关的光学元件被设计用来为核心流提供平行光。如上所示，平行光对于测量由液流中的选定微粒产生的前向角散射 (FALS) 是比较理想的。

5 图 15 是本发明的可被佩戴在手腕上的小型便携式血细胞计数器的一个说明例的透视图。这种血细胞计数器 400 可能与图 1 中所示的血细胞计数器相类似。一条带 402 将血细胞计数器 400 固定在使用者的手腕上。

10 如上所示，使用者可以得到一个可更换盒，并可将一份血样供给可更换盒的采样端口 32 (见图 1)。可通过如戳破手指的方法来采集血样。然后使用者可以将可更换盒插入到仪器箱体中，并手工按压该系统。随后该小型便携式流式血细胞计数器便可以提供一个读数来指出使用者是否应该寻求医务治疗。该读数可以是一种视觉读数，也可以是一种可听见的声音或其他任何合适的显示形式。

15 不通过戳破手指或类似的手段来采集血样，可以将导管 404 或类似的东西插入到使用者的一条血管之中，并将该导管与采样端口 32 相连。这将允许系统在任何想要一个读数时自动从使用者处采集一份血样。或者，我们认为小型便携式血细胞计数器可以被植入人体内，且其采样端口 32 与某一合适的血液供应源相连。

20 图 16 示出了一个具有散射光学子系统 501 和荧光光学子系统 502 的血细胞计数器盒 500。光学子系统 501 包括液流导槽两侧的窗或开口 30a，光学子系统 502 包括窗或开口 30b。在每个子系统中，存在着分布于液流导槽每一侧的一个窗或开口。这些开口可能具有光学插件或透镜。这种血细胞计数器根据其实现方式可以被佩戴，系在
25 人体上或是被插入到人体内。

图 17 示出了分别集成了光学子系统 501、502 的系统 503、504。系统 503 还包括用于测量核心流 160 中微粒如白细胞的散射特性的 VCSEL 列 22a 和光探测器列 24a。这个系统可被用于淋巴细胞和中性

粒细胞的计数和分类。自对准功能可以通过一个基于红色 VCSEL 列的光学子系统来实现。散射系统 503 的说明例如上所述。

系统 504 是一种荧光激励和检测机构，可被用来对特定子类的白细胞和血液中的蛋白质进行识别和计数。检测白细胞子类可以通过某些可用的合适抗体来实现。可以买到许多这样的呈现荧光共轭形态的抗体。图 18 示出了一张血液成分简图和可以被荧光系统 504 进行计数和识别的细胞。如上所述，送入血细胞计数器中有待观察的血样，其红细胞已被溶解除去。检查白细胞时，血小板被保留，因为其较小尺寸不会影响血细胞计数器的检查结果。作为一个说明例，呈 CD4 阳性的 T 细胞 505，其结构如图 18 所示，它在血液中所占比例和数量对于艾滋病 (HIV) 感染的临床病程跟踪是十分重要的。一种加入某种与 CD4 细胞相关的标示物的抗体可与血样相混合，以得到抗体 (AB) 506 的一种 “Y” 形结构和被附加到 CD4 细胞 505 上的标示物 (M) 507，如图 19a 所示。光源 22b 发射出光，且该光可以被标示物 507 吸收。作为响应，标示物 507 发出荧光，并放射出特定波长的可被检测出的光，以识别 CD4 细胞 505。

通过检查血液来检测炭疽热是当前血细胞计数器的另一应用。与诱发炭疽热的细菌 509 相对应的抗体 508 被与血样混合。这些抗体可以与细菌 509 结合在一起。这些抗体也含有受到光的撞击后即发出荧光的标示物 510。抗体 508 的 “Y” 形结构如图 19b 所示。标示物 510 发出一种特定带宽的光，这种光的带宽不同于 CD4 细胞 505 之抗体 506 的标示物 507 所发光的带宽。从而在同一个血样测试中，通过比较具有不同波长、颜色和特征的荧光发射，可以将炭疽热感染从艾滋病感染中独立地辨识出来。在同一份血样中同时检测出的疑问状态数可大于两个。

作为另一说明例，Neupogen^R (一种蛋白质) 被视作用来增加接受抑制骨髓活性化疗的癌症患者体内中性粒细胞的数量。在这种治疗过程中，需要对白细胞数量 (特别是处于 neupogen^R 治疗阶段的中性

粒细胞、单核细胞和血小板的数量)进行准确的监控。本发明的血细胞计数器可以被未经训练的人使用,以便在那些接受化疗的患者家中对他们进行监控。

5 本发明的便携式血细胞计数器可用于生物战中。它可被用于对生物病原体的定量检测和识别。这种检测和识别是建立在利用荧光测量实现的抗体-抗原型免疫分析基础上的。环境、水和食物可受到监控,以检测出任何可能出现的生物病原体。这个过程会涉及为本发明的血细胞计数器的样本采集和准备。本血细胞计数器的其他应用包括对 DNA 和 RNA 进行高通量分析(使用其荧光检测功能)和排序,研究细胞对试制药物的反应,分析白血病和淋巴瘤的免疫表现型,监控癌症患者体内的剩余病变,以及对细胞进行分选和隔离,包括对罕见种群的高速隔离。与它的其他特点相比,该装置的以下特点更引人注目:上述应用和其他用途是使用单一的便携式的和小型的具有紧凑的精确流体驱动系统,并集成了散射光系统和多色荧光系统的低功耗低成本血细胞计数器设备而实现的,在分析阶段它不需要人员的干预和调节,不需要训练有素的人员对其进行操作,并使用由卫生的一次性塑料或其他材料制成的具有集成式光学元件和内部血样处理设备的微流体控制盒 14。

20 图 17 中的系统 504 具有一个激光源 22b,该光源被配置在一个合适位置,使得它能将光 511 定向在液流导槽 530 中单一纵列流动的微粒 512 上。为了说明起见,微粒 512 可以分别包括图 19a 中的结构 513 和图 19b 中的结构 514。光 511 可以来自一个红色或蓝色激光源,如发光二极管,该光可以分别具有如 650 到 700 纳米或是 380 到 420 纳米的带宽。其他具有合适波长的光源也能被用于产生光 511。

25 当光 511 与荧光标示物 507 和 510 发生碰撞时,这些标示物发出荧光,同时分别放射出光 515 和 516。因为这些标示物彼此不同,光 515 和 516 具有不同的波长。因此,结构 513 和 514 不仅可以从它们所发之光的波长中被辨识出来,而且可以在同一份样品、血液或是其

他物质中被区分出来。光 515 和 516 可以到达二色分光器 517，并由后者通过将它们导向不同方向，从而将这两种光束分离开来。光束 516 可以到达一个荧光电光探测器 518，并由后者对其进行检测和转换成送至处理器 40 的电信号 520。光束 515 可到达一个荧光电光探测器 521，并由后者对其进行检测并转换成送至处理器 40 的电信号 522。处于光束 516 路径上的带通滤波器 519 能将来自光源 22b 且得以在光束 516 中出现的光 511 滤去。带通滤波器 523 对于光束 515 的作用就如带通滤波器 519 对于光束 516 的作用一样。为了给光探测器 521 定位，镜 524 被用来将光进行重新定向，这样做是为了对探测系统 504 进行更紧凑的封装，或是为了其他原因。在另一方面，镜 524 也可以成为将不同波长的光 525 从光束 515 和 516 中分离出去的另一个二色分光器。更多的分光器可以被级联起来或是被排列成其他结构以滤除其他频率成分的光。来自散射检测系统 503 的光探测器列 24a 的信号也向处理器 40 行进。

分光器 517 可以被其他装置取代，以将不同波长的光分离出来或选择特定波长的光。这些装置可能包括不同类型的陷波滤波器和阶跃函数型滤波器、可调式衍射光栅、薄膜介电叠层、发射式分光器，光子能隙滤波器、光子晶体、可调式带通滤波器、标准梳齿和其他滤波结构，以及具有附带结构性滤波和其他滤波装置的光波导的晶片，用于吸收/滤除光波的具有波导和含有特定尺寸和节距的孔眼的硅晶片或玻璃晶片，等等。

图 20 示出了荧光学子系统 502 的结构。光源 22b 发出光束 511，并穿过窗 30b 通过微透镜 526 聚焦于微粒 512 上。光束 511 可被准直也可不被准直。微粒 512 可以具有一种能发荧光且透过窗 30b 发出分别经过薄膜涂层滤波器 527 和微透镜 528 的光束 515、516 的标示物。滤波器 527 可将光 511 从光源 22b 中滤除。滤波器 527 可以是位于透镜 528 下的介质叠层和一种陷波或阶跃函数型滤波器，以阻挡光源 22b 发出的光 511。透镜 528 可以将标示物发出的荧光聚焦

成光束 515/516, 该光束随后到达分光器, 例如分光器 517。光束 515/516 可以被准直也可以不被准直。在处于液流导槽 530 的玻璃、石英或塑料(被切成或未被切成薄片)衬底上的窗 30b 或透镜 528 四周或前后形成不透明的或是吸收性的层 529。层 529 可以防止光源 22b 发出的任何光 511 与荧光 515/516 相混合。层或遮光滤光片 529 可以是一种对想要加以阻挡的波段的光呈黑色或不透明的薄膜。滤波器 529 可以是一种陷波或阶跃函数型滤波器。另一玻璃、石英或塑料(被切成或未被切成薄片)衬底 532 形成了微粒 512 的核心流的液流导槽 530。衬底 531、532、窗 30b 以及透镜 526 和 528 的构成材料中不能含荧光成分。在一说明例中, 光源 22b 发出的光 511 之方向相对于微粒 512 发出的荧光 515/516 之方向约成 90 度角。光源 511 所发之光与荧光 515/516 之间所成的这个角可以有效的减少或消除光源所发之光与荧光 515/516 的混合。在本例中, 来自光源 22b 的光 511 之方向相对于液流导槽 530 的纵向尺寸方向或微粒 512 的核心流方向可以成约 45 度角。然而, 在某些应用中, 光 511 的方向与光 515/516 的方向之间可以成 0 到 120 度角。

图 21a 示出了用于散射光学子系统 501 的液流导槽 530 的端视图, 图 21a 示出了用于荧光学子系统 502 的液流导槽 530 的端视图。衬底 531 和 532 的厚度约为 100 到 200 微米。窗 30a 和 30b 的厚度约为 25 到 30 微米。微透镜 526 和 528 可以是衍射或折射性的, 可以由玻璃或塑料制成, 并可以是非球面透镜, 其直径约为 500 微米。导槽 533 可用激光切割而成。

图 21c、21d、21e 是图 21a 和 21b 的变形。图 21c 示出了一条具有窗或开口 30a 和 30b 的液流导槽。开口或窗 30a 和 30b 可分别配置在液流导槽的一侧。开口中可以有光学插件或透镜。微透镜 526 和 528 或其他类型的透镜可以形成于、附着在、插入到在导槽两侧各形成一个的开口或窗 30b 和 30a 上, 或与开口或窗 30b 和 30a 整体形成。图 21d 示出了没有附加微透镜、也没有在其表面形成微透

镜的窗 30a 和 30b, 但是却在距其一定的和适当距离的位置配置了透镜 541 和 542。图 21e 示出了一个既附带微透镜 526 和 528, 也配置了分离式透镜 541 和 542 的窗结构, 且微透镜 526 与透镜 541 对应, 微透镜 528 与透镜 542 对应。

5 图 22 示出了图 17 中血细胞计数器的一张示意图, 但同时在其中加入了透镜 541 和 542。如上所述, 在透镜 541 和 542 之外窗和开口 30b 还可以包括微透镜, 也可不包括微透镜。

图 23 是一种同时具有散射光和荧光检测和监控系统的可佩戴在手腕上的小型便携式血细胞计数器的一个说明例的透视图。这种血
10 细胞计数器 600 可与图 1 和图 16 中所示的血细胞计数器相类似。一条带 602 将血细胞计数器 600 固定在使用者的手腕上。

如上所示, 使用者可以得到一个可更换盒, 并可将一份血样导入到可更换盒的采样端口 32 (见图 1、16、17 和 22) 中。可以通过如戳破手指的方法来采集血样。然后使用者可以将可更换盒插入到
15 仪器箱体中, 并手工按压该系统。随后该小型便携式血细胞计数器便可以提供一个读数来指出使用者是否应该寻求医务治疗。该读数可以是一种视觉读数, 也可以是一种可听见的声音或其他任何合适的显示形式。

可以不通过戳破手指或类似的手段来采集血样, 而将导管 604
20 或类似的东西插入到使用者的一条血管之中, 并将该导管与采样端口 32 相连。这将允许系统在任何想要一个读数时自动从使用者处采集一份血样。或者, 可以将小型便携式流式血细胞计数器植入到体内, 且其采样端口 32 与某一合适的血液供应源相连。

尽管已经用至少一个说明例对本发明作了描述, 对于那些业内
25 行家来说, 在读过本说明后即不难理解本发明可能存在的许多变化和修改。因此, 应当对所附的权利要求进行从现有技术看来尽可能宽泛的解释, 以涵盖对本发明的所有变化和修改。

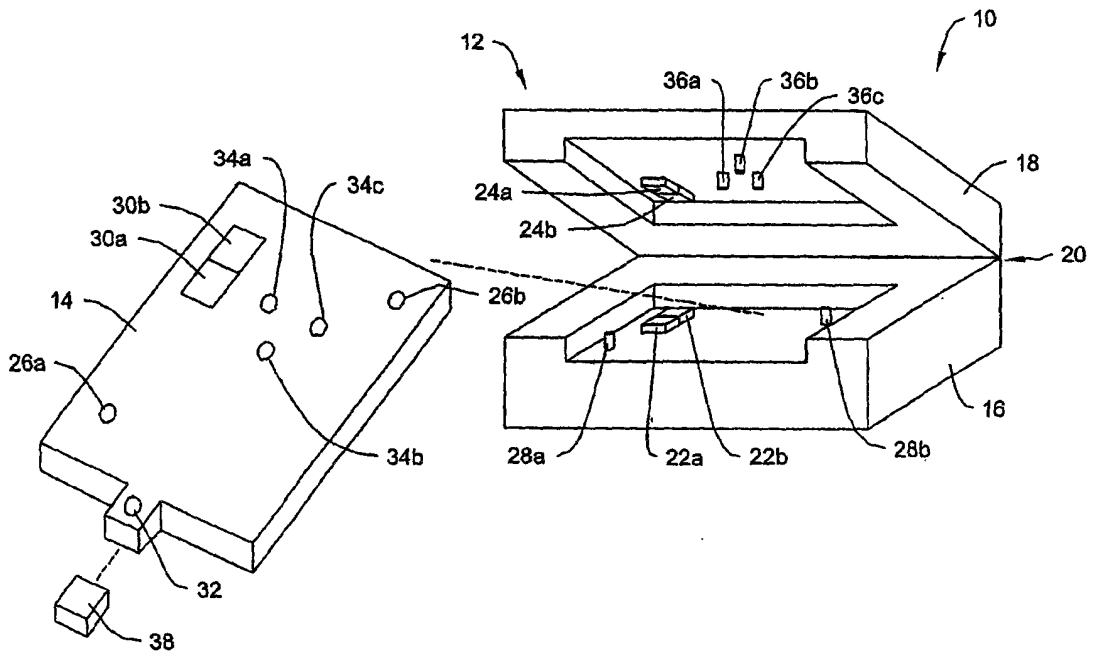


图 1

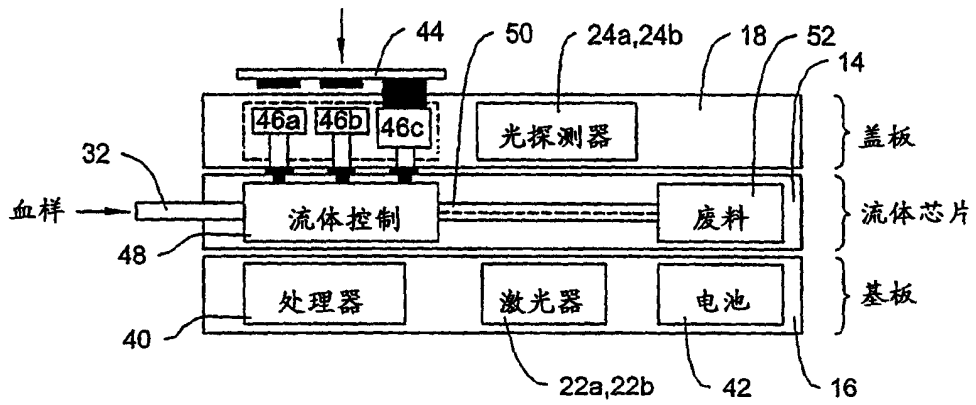


图 2

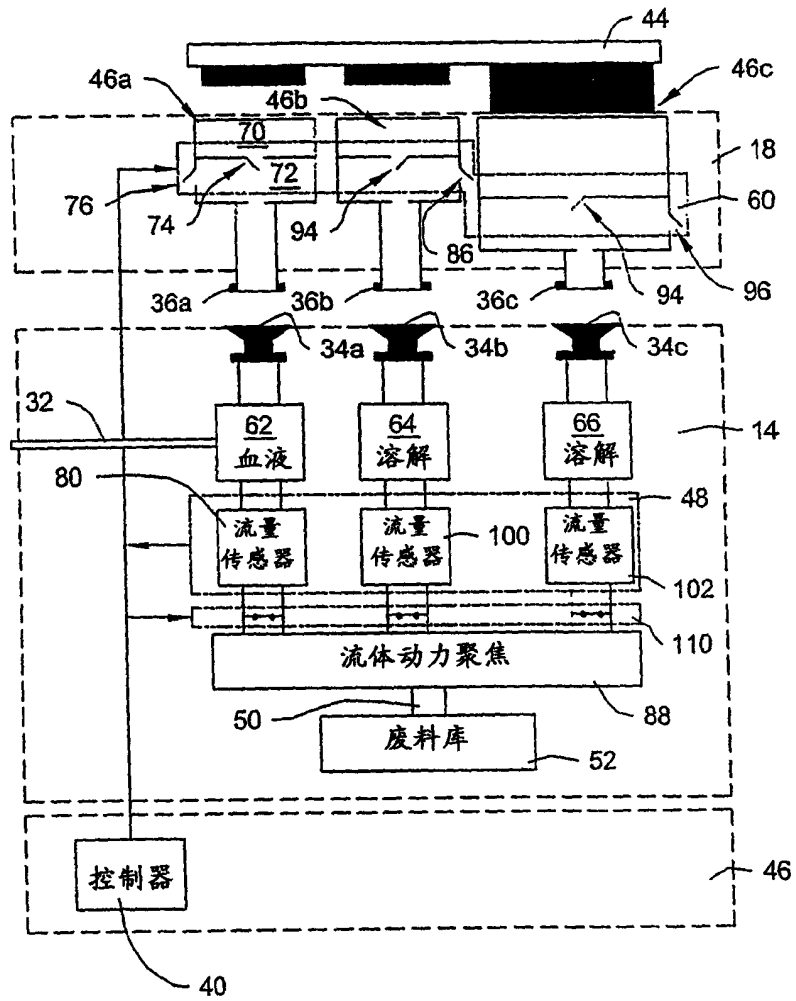


图 3

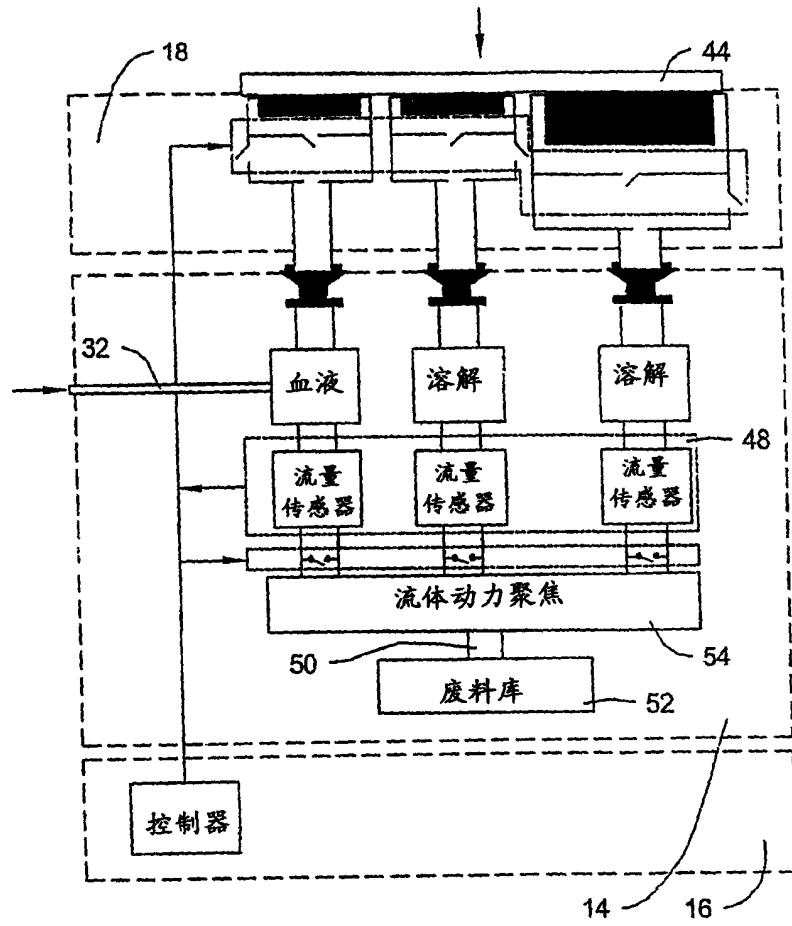


图 4

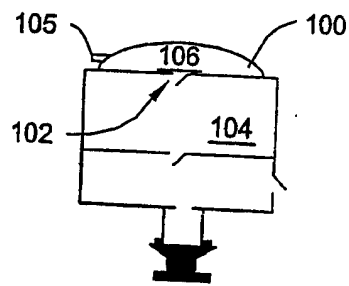


图 5

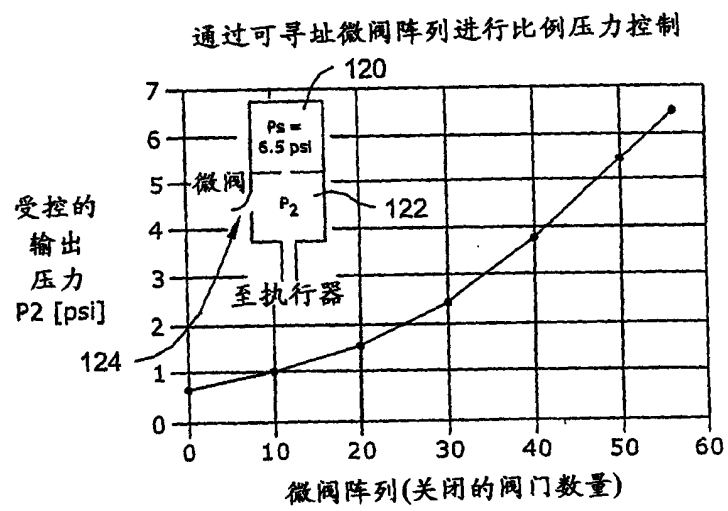


图 6

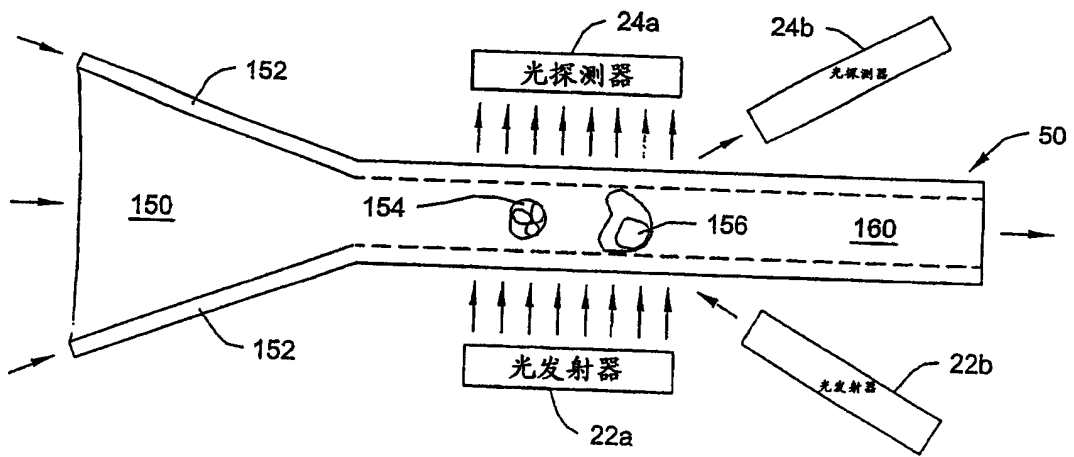


图 7

图 8

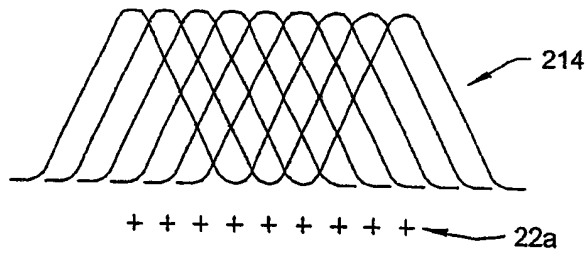
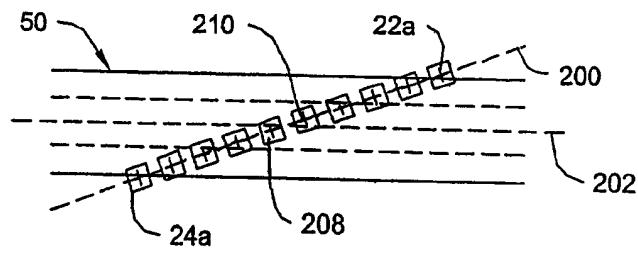


图 9

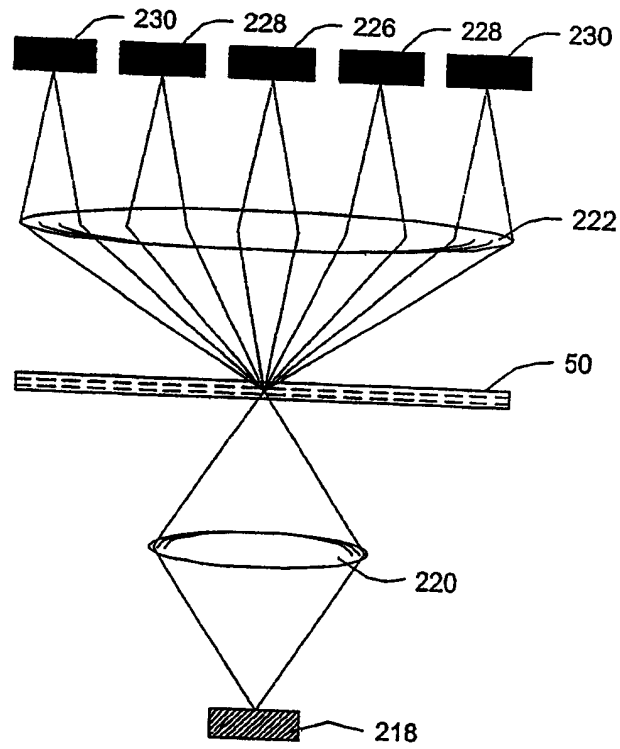


图 10

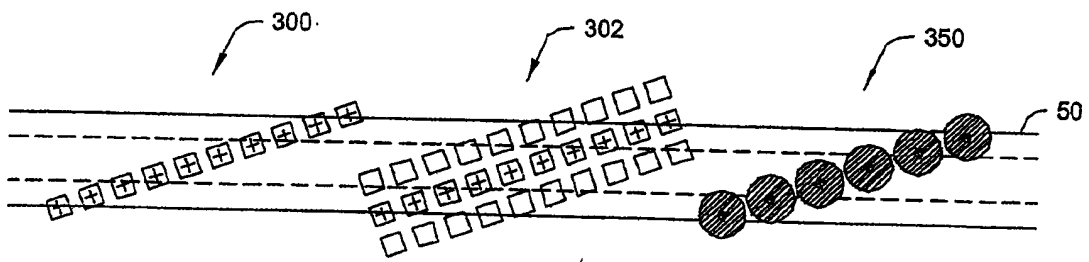


图 11

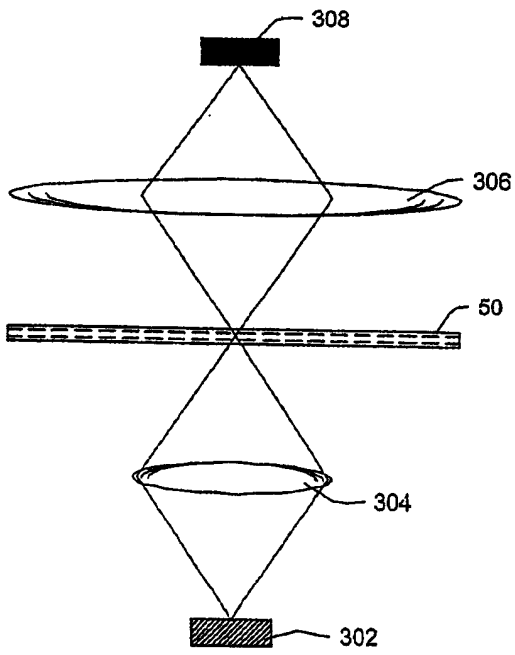


图 12

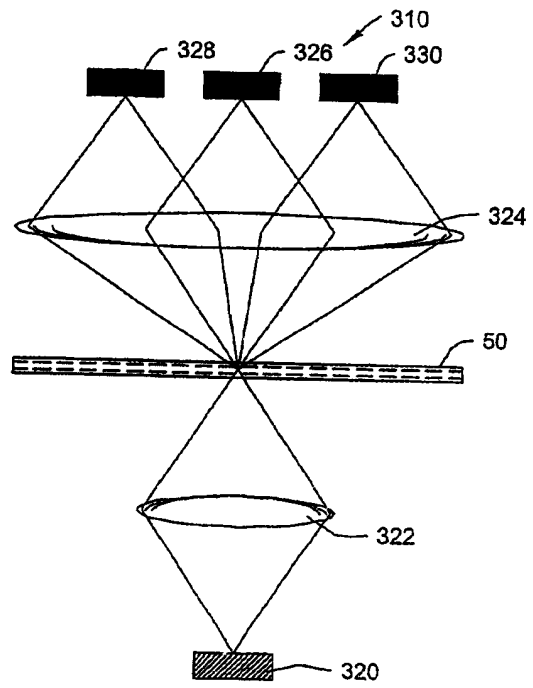


图 13

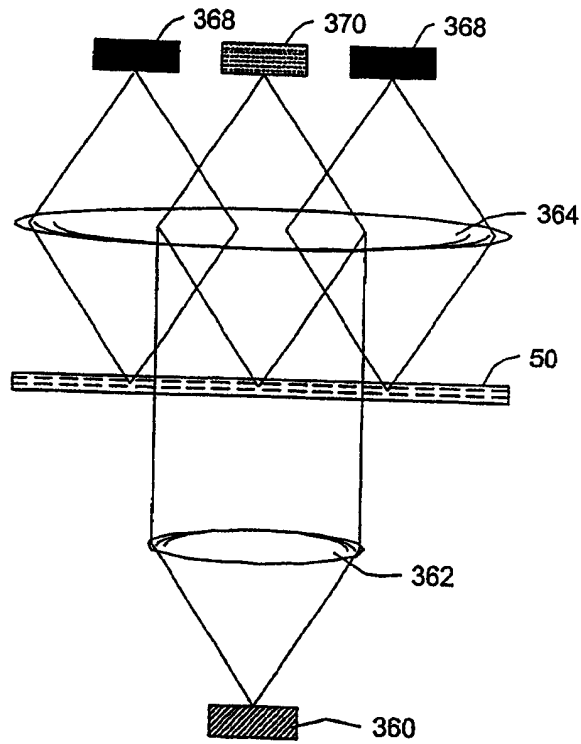


图 14

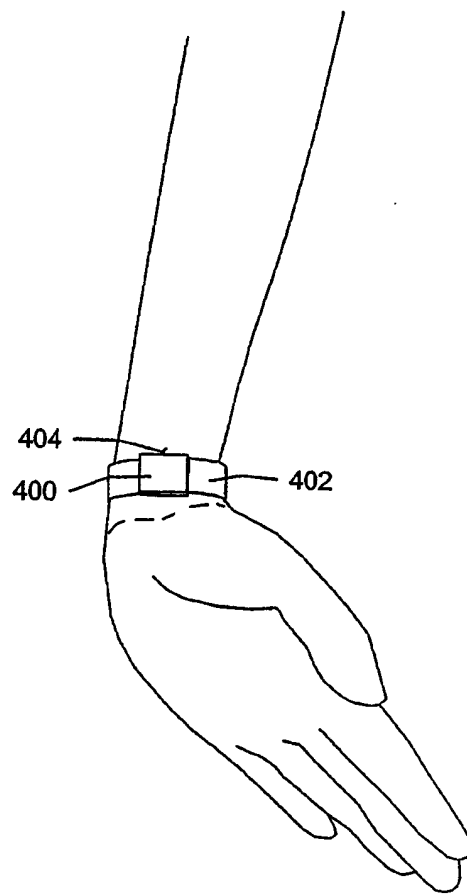


图 15

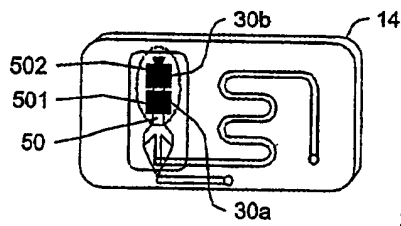


图 16

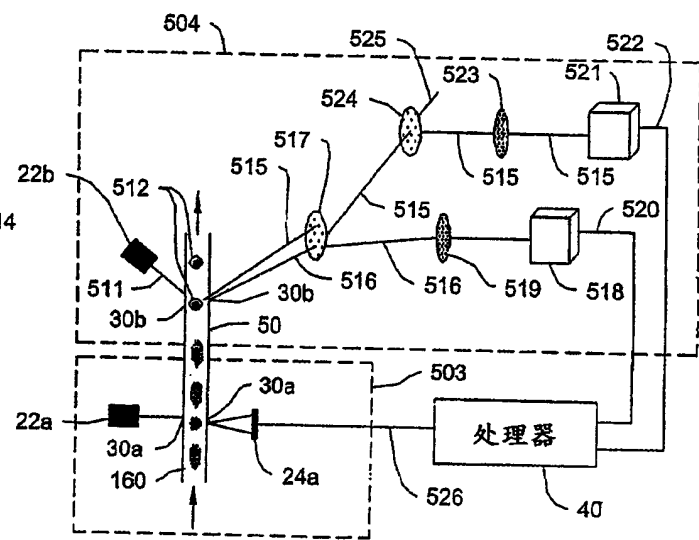


图 17

图 18

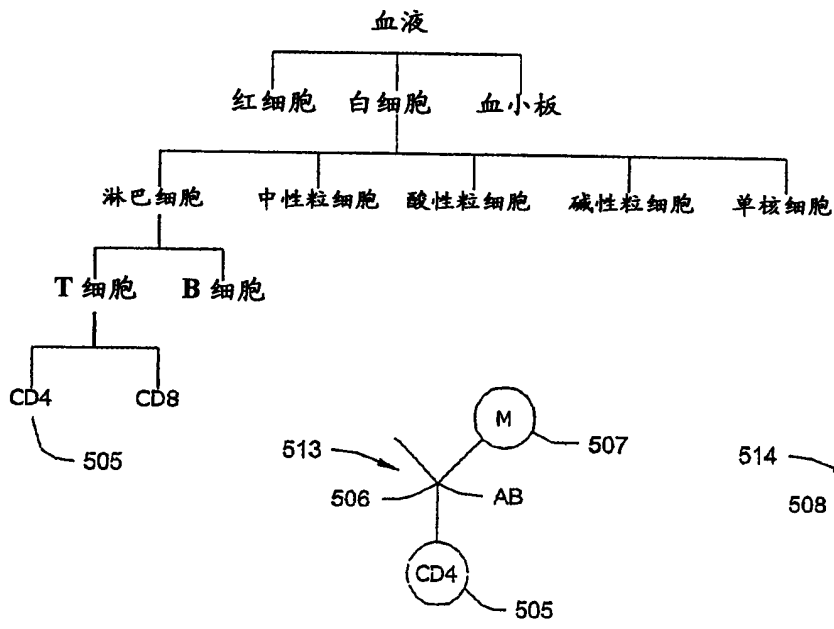


图 19a

图 19b

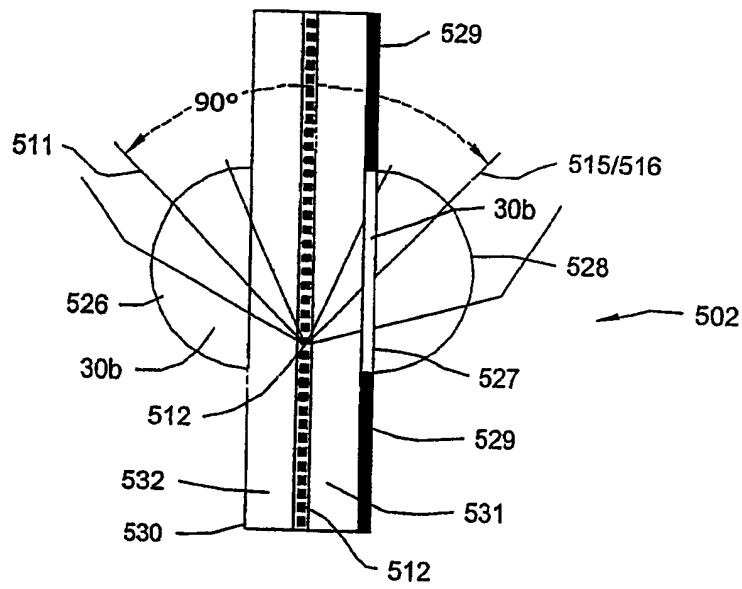


图 20

图 21a

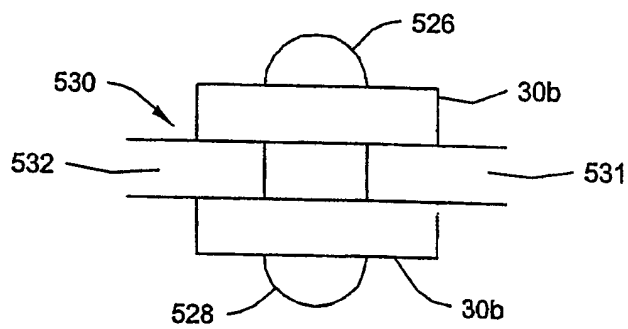
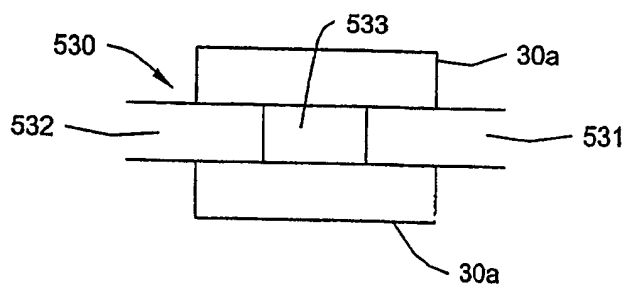


图 21b

图 21c

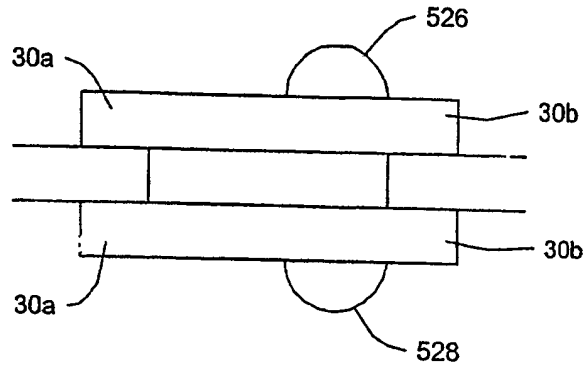


图 21d

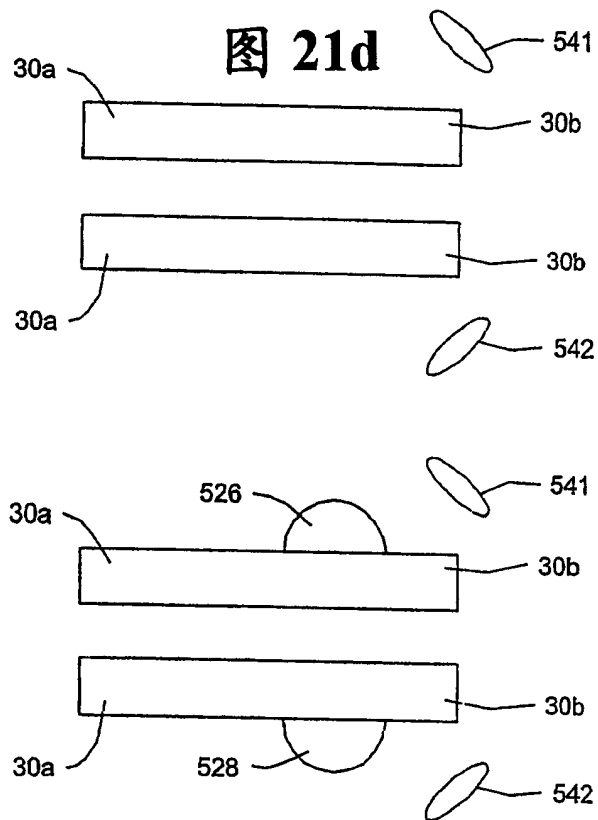


图 21e

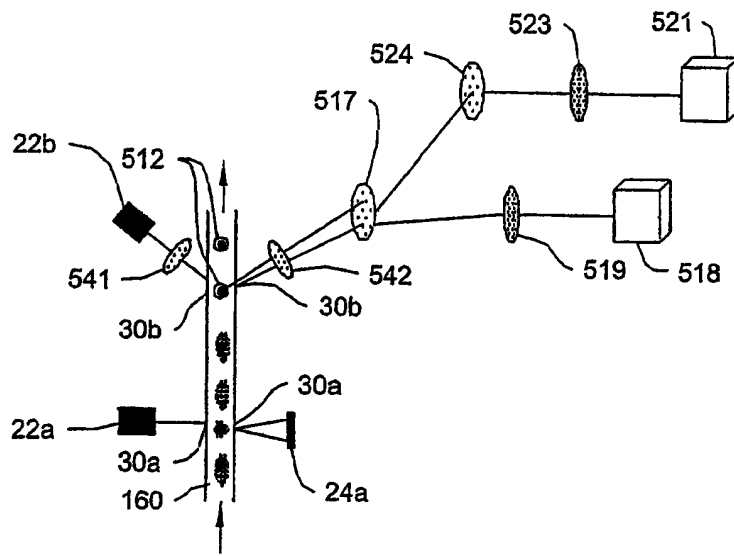


图 22

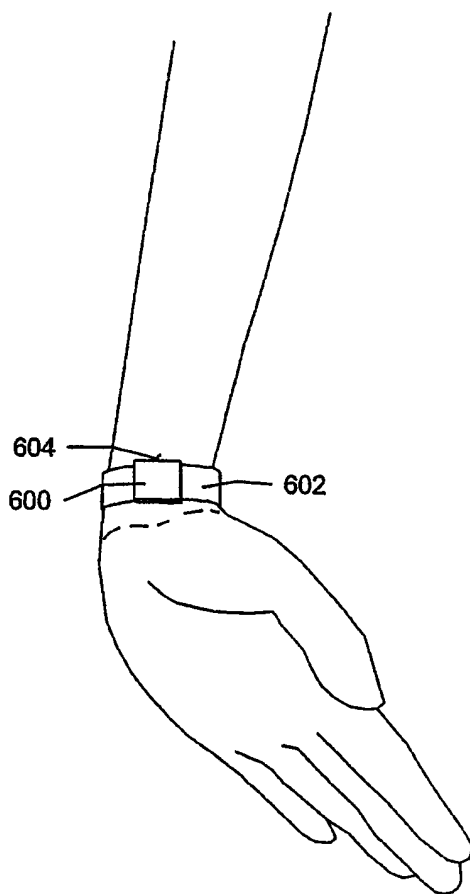


图 23