

(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
2020 年 7 月 2 日 (02.07.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/132875 A1

(51) 国际专利分类号:

G01N 33/96 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2018/123529

(22) 国际申请日: 2018 年 12 月 25 日 (25.12.2018)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(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 12 路迈瑞大厦, Guangdong 518057 (CN)。

(72) 发明人: 宋瑞霞 (SONG, Ruixia); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南 12 路迈瑞大厦, Guangdong 518057 (CN)。 谢键 (XIE, Jian); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南 12 路迈瑞大厦, Guangdong 518057 (CN)。

(74) 代理人: 北京派特恩知识产权代理有限公司 (CHINA PAT INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE); 中国北京市海淀区海淀南路 21 号中关村知识产权大厦 B 座 2 层, Beijing 100080 (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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, SA, 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。

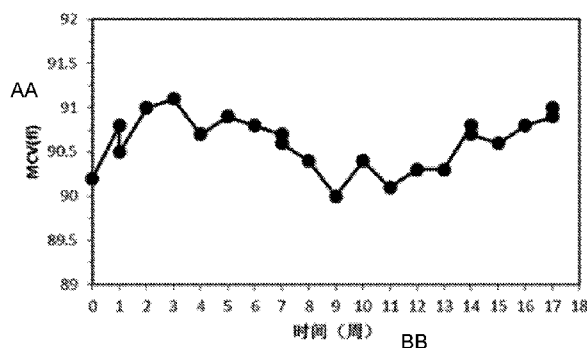
(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR),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

(54) Title: ERYTHROCYTE SIMULATION PARTICLES, PREPARATION METHOD THEREFOR, AND QUALITY CONTROL MATERIAL OR CALIBRATOR CONTAINING SAME

(54) 发明名称: 红细胞模拟粒子、其制备方法及其含其的质控物或校准物



AA MCV(fl)
BB Time (week)

图 7

(57) Abstract: Erythrocyte simulation particles, a preparation method therefor, and a quality control material or calibrator containing the erythrocyte simulated particles. The method for preparing the erythrocyte simulation particles comprises: performing oxidizing and fixing treatments on erythrocytes by using an erythrocyte treatment solution that has a pH of 5.0-9.0 and an osmotic pressure of 300-800 Osm/kg•H₂O, wherein the erythrocyte treatment solution contains at least one oxidizing agent selected from halogen oxyacid salts and at least one fixing agent selected from aldehydes or acids; and washing the erythrocytes treated by the erythrocyte treatment solution and suspending same in a preservation solution. The described method uses an environmentally friendly halogen oxyacid salt as an oxidant to obtain erythrocyte simulation particles that may be stored stably for a long time and have properties similar to natural blood erythrocyte particles in an erythrocyte detection channel.

(57) 摘要：一种红细胞模拟粒子、其制备方法及其含有该红细胞模拟粒子的质控物或校准物。制备红细胞模拟粒子的方法包括采用pH为5.0~9.0、渗透压为300~800 Osm/kg·H₂O的红细胞处理液对红细胞进行氧化处理和固定处理，其中，该红细胞处理液含有选自卤素含氧酸盐的至少一种氧化剂和选自醛或酸的至少一种固定剂；和将经该红细胞处理液处理后的红细胞洗涤并悬浮在保存液中。该方法采用环境友好的卤素含氧酸盐作为氧化剂，获得了能够长期稳定保存的且在红细胞检测通道中与天然血液红细胞粒子性质类似的红细胞模拟粒子。

红细胞模拟粒子、其制备方法及其质控物或校准物

技术领域

本发明涉及用于血液细胞分析仪的红细胞模拟粒子、其制备方法以及包含这样的红细胞模拟粒子的质控物或校准物。

5 背景技术

血液细胞分析仪是用于对血液样本进行包括红细胞参数在内的全自动生化分析设备。为了有效对分析仪的红细胞检测结果进行监控和校准，需要能够有效模拟红细胞特征的红细胞模拟粒子来制备质控物和标准物。

常规方法制备红细胞模拟粒子是采用醛固定的方法，存在细胞体积随
10 时间产生变化的问题。本申请人提出了使用重铬酸盐与醛类联合对红细胞球进行固定以使其稳定的方法。然而，重铬酸盐的使用会导致环境污染问题。

基于对减轻环境污染问题越来越高的要求，有必要提供环保的红细胞模拟粒子的制备方法，同时还能够使所制备的红细胞模拟粒子在形态、体
15 积等方面在有效期内保持稳定。

发明内容

针对现有技术中的问题，本发明提供了一种制备红细胞模拟粒子的方法，并由此提供一种由此制备的红细胞模拟粒子和包含该红细胞模拟粒子的质控物/校准物。本发明的方法及由此获得的红细胞模拟粒子和质控物/
20 校准物解决了至少一个上述问题。

在本发明的第一方面中，根据第一实施方式，提供一种制备红细胞模拟粒子的方法，所述方法包括：

采用 pH 为 5.0~9.0、渗透压为 300~800sm/kg·H₂O 的红细胞处理液对红细胞进行氧化处理和固定处理，其中，所述红细胞处理液含有选自卤素含氧酸盐的至少一种氧化剂和选自醛或酸的至少一种固定剂；和

将经所述红细胞处理液处理后的红细胞洗涤并悬浮在保存液中。

5 本发明的所述至少一种氧化剂选自由氯、溴和碘的次卤酸盐、亚卤酸盐、卤酸盐和高卤酸盐所组成的组。优选地，所述至少一种氧化剂选自由次氯酸、亚氯酸、氯酸、高氯酸、溴酸、碘酸和高碘酸的钠盐和钾盐所组成的组。进一步优选，所述至少一种氧化剂选自由高氯酸钠、高氯酸钾、溴酸钠、溴酸钾、氯酸钠和氯酸钾所组成的组。

10 本发明的所述至少一种氧化剂在所述红细胞处理液中的浓度为 0.01~20g/L，优选为 0.05~10g/L，更优选为 0.05~5g/L。

根据一种具体实施方式，所述至少一种氧化剂为高氯酸盐、尤其是高氯酸钠并且在所述红细胞处理液中的浓度为 8~20g/L，优选为 8~10g/L。

根据另一种具体实施方式，所述至少一种氧化剂为溴酸盐、尤其是溴酸钠并且在所述红细胞处理液中的浓度为 0.25~2g/L、优选为 0.25~1g/L，更
15 优选为 0.25~0.5g/L。

根据再一种具体实施方式，所述至少一种氧化剂为氯酸盐、尤其是氯酸钠并且在所述红细胞处理液中的浓度为 0.5~2g/L、优选为 0.5~1g/L。

根据本发明，所述至少一种固定剂选自由甲醛、戊二醛、乙二醛、丙酮醛、对三氟甲基苯甲醛、多聚甲醛、铬酸、苦味酸、单宁酸和醋酸所组成的组。
20

本发明中，所述至少一种固定剂在所述红细胞处理液中的体积浓度为 0.01~0.5 vol%。

该实施方式中，所述红细胞处理液还包含必要的缓冲剂，和可选的渗透压调节剂。进一步地，所述红细胞处理液还可包含防腐剂。
25

根据一种具体实施方式，本发明的方法中，在用所述红细胞处理液进行处理的步骤，所述红细胞处理液与待处理的红细胞以 1~2:1 的比例混合，以进行所述处理。

根据第二实施方式，本发明还提供一种制备红细胞模拟粒子的方法，

5 所述方法包括：

采用 pH 为 5.0~9.0、渗透压为 300~800sm/kg·H₂O 的第一红细胞处理液对红细胞进行氧化处理，其中，所述第一红细胞处理液含有选自卤素含氧酸盐的至少一种氧化剂；

10 采用 pH 为 5.0~9.0、渗透压为 300~800sm/kg·H₂O 的第二红细胞处理液对红细胞进行固定处理，其中，所述第二红细胞处理液含有选自醛或酸的至少一种固定剂；和

将经所述第一红细胞处理液处理和所述第二细胞处理液后的红细胞洗涤并悬浮在保存液中。

同样的，所述至少一种氧化剂选自由氯、溴和碘的次卤酸盐、亚卤酸盐、15 卤酸盐和高卤酸盐所组成的组。优选地，所述至少一种氧化剂选自由次氯酸、亚氯酸、氯酸、高氯酸、溴酸、碘酸和高碘酸的钠盐和钾盐所组成的组。进一步优选，所述至少一种氧化剂选自由高氯酸钠、高氯酸钾、溴酸钠、溴酸钾、氯酸钠和氯酸钾所组成的组。

在该实施方式中，所述至少一种氧化剂在所述第一红细胞处理液中的20 浓度也同为 0.01~20g/L，优选为 0.05~10g/L，更优选为 0.05~5g/L。

在一种具体实施方式中，所述至少一种氧化剂为高氯酸盐、尤其是高氯酸钠并且在所述第一红细胞处理液中的浓度为 8~20g/L，优选为 8~10g/L。

在另一种具体实施方式中，所述至少一种氧化剂为溴酸盐、尤其是溴酸钠并且在所述第一红细胞处理液中的浓度为 0.25~2g/L、优选为25 0.25~1g/L，更优选 0.25~0.5g/L。

在再一种具体实施方式中，所述至少一种氧化剂为氯酸盐、尤其是氯酸钠并且在所述第一红细胞处理液中的浓度为 0.5~2g/L、优选为 0.5~1g/L。

同样所述至少一种固定剂选自由甲醛、戊二醛、乙二醛、丙酮醛、对三氟甲基苯甲醛、多聚甲醛、铬酸、苦味酸、单宁酸和醋酸所组成的组。

5 所述至少一种固定剂在所述第二红细胞处理液中的体积浓度为 0.01~0.5 vol%。

在该实施方式中，进行所述氧化处理后，用缓冲液洗涤经氧化处理的红细胞，然后进行所述固定处理。

该实施方式中，所述第一和第二红细胞处理液还包含必要的缓冲剂，
10 和可选的渗透压调节剂。进一步地，所述第一和/或第二红细胞处理液可进一步包含防腐剂。

根据一种具体的实施方式，在用所述第一红细胞处理液进行处理步骤中，用所述第一红细胞处理液与待处理的红细胞以 1~2:1 的比例混合以进行氧化处理。在用所述第二红细胞处理液进行处理步骤中，用所述第二红细
15 胞处理液与所述待处理的红细胞以 1~2:1 的比例混合以进行固定化处理。

在本发明的第一和第二实施方式中，所述保存液的 pH 为 5.0~9.0、渗透压为 300~800sm/kg·H₂O，且包括 0.01~10g/L 的防腐剂和 0.01~5g/L 的稳定剂。

在一种具体实施方式中，所述防腐剂为选自叠氮化合物、卡松类和氨基糖苷类抗生素中的至少一种，能够抑制红细胞模拟粒子中的微生物污染
20 且不影响红细胞模拟粒子稳定性。所述稳定剂为选自咪唑烷基脲类中的至少一种，有助于长期保持红细胞模拟粒子的稳定性。

本发明的保存剂还包括缓冲剂以及可选的渗透压调节剂。进一步地，所述保存剂还可包括葡萄糖。

25 在本发明的上述两种实施方式中，本发明制备红细胞模拟粒子的方法

进一步包括，在用所述（第一）红细胞处理液对红细胞进行处理之前，对所述红细胞进行球形化处理的步骤。

本发明制备红细胞模拟粒子的方法中所用的红细胞来自哺乳动物。优选来自人类或红细胞体积与人类接近的哺乳动物，例如猴或猪。

5 本发明的第二方面，提供一种红细胞模拟粒子。所述红细胞模拟粒子由上述第一方面中的第一实施方式和第二实施方式中的任何一种方法制备得到。

本发明的第三方面，提供一种用于血液细胞分析仪的质控物或校准物，其中包括本发明的红细胞模拟粒子。

10 具体地，所述质控物或校准物还含有白细胞模拟粒子、血小板模拟粒子和有核红细胞模拟粒子中的至少一种。

根据本发明的制备红细胞模拟粒子的方法，采用环境友好的卤素含氧酸盐，使膜蛋白构象改变，从而加强了细胞膜骨架的稳定性，并可同时稳定细胞内的血红蛋白。另外，本发明使用醛类或酸类固定剂对细胞进行固
15 定处理，进一步维持细胞的稳定性，从而获得在红细胞检测通道中与天然血液红细胞粒子性质类似的红细胞模拟粒子。本发明的方法不需对红细胞进行球形化处理就能获得较好的（例如在细胞形态和体积方面的）粒子稳定性，并避免使用不环保的重金属。此外，将根据本发明方法制得的红细胞模拟粒子保存在含有防腐剂和咪唑烷基脲类稳定剂的保存液中，有助于
20 红细胞模拟粒子的长期稳定。

附图说明

图 1 是根据对比例 1 制备的红细胞模拟粒子在 18 周内连续测定的平均红细胞体积随时间的变化曲线图。

图 2 是根据实施例 1 制备的红细胞模拟粒子在 18 周内连续测定的平均
25 红细胞体积随时间的变化曲线图。

图 3 是根据实施例 2 制备的红细胞模拟粒子在 18 周内连续测定的平均红细胞体积随时间的变化曲线图。

图 4 是根据实施例 3 制备的红细胞模拟粒子在 18 周内连续测定的平均红细胞体积随时间的变化曲线图。

5 图 5 是根据实施例 4 制备的红细胞模拟粒子在 18 周内连续测定的平均红细胞体积随时间的变化曲线图。

图 6 是根据实施例 5 制备的红细胞模拟粒子在 18 周内连续测定的平均红细胞体积随时间的变化曲线图。

10 图 7 是根据实施例 6 制备的红细胞模拟粒子在 18 周内连续测定的平均红细胞体积随时间的变化曲线图。

图 8 是根据实施例 7 制备的红细胞模拟粒子在 18 周内连续测定的平均红细胞体积随时间的变化曲线图。

图 9 是根据实施例 8 制备的红细胞模拟粒子在 18 周内连续测定的平均红细胞体积随时间的变化曲线图。

15 图 10 是根据实施例 9 制备的红细胞模拟粒子在 18 周内连续测定的平均红细胞体积随时间的变化曲线图。

图 11 是根据实施例 10 制备的红细胞模拟粒子在 18 周内连续测定的平均红细胞体积随时间的变化曲线图。

20 图 12 是根据实施例 11 制备的质控物在 18 周内连续测定的平均红细胞体积随时间的变化曲线图。

图 13 是新鲜采集的人的抗凝血 (a1 和 a2) 及根据实施例 11 制备的质控物 (b1 和 b2) 在同一血液细胞分析仪上检测的白细胞 (WBC) 的散射光-荧光二维散点图 (a1 和 b1) 以及红细胞 (RBC) 的直方图 (a2 和 b2)。

具体实施方式

25 下面将结合本发明具体实施方式和实施例, 对本发明实施方式中的技

术方案进行清楚、完整地描述，显然，所描述的具有实施方式仅仅是本发明的一部分实施方式，而不是全部的实施方式。基于本发明中的实施方式，本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施方式，都属于本发明保护的范围。

5 在整个说明书中，除非另有特别说明，本文使用的术语应理解为如本领域中通常所使用的含义。因此，除非另有定义，本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域技术人员的一般理解相同的含义。若存在矛盾，本说明书优先。

10 在文中，术语“包括”、“包含”或者其任何其他变体意在涵盖非排他性的包含，从而使得包括一系列要素的方法或者产品不仅包括所明确记载的要素，而且还包括没有明确列出的其他要素，或者还包括为实施所述方法或者产品所固有的要素。

除非另有说明，否则如在本文件所使用的单数形式“一个/种（a/an）”和“该/所述”包括所指名词的复数。

15 本发明为了获得一种能够以环保的方法制备出能够长期保持稳定的，尤其是体积稳定的红细胞模拟粒子，提供一种制备红细胞模拟粒子的方法。本发明的方法是采用卤素的含氧酸盐对天然来源的红细胞进行氧化处理，并进一步用固定化剂进行固定化处理，从而获得了稳定的红细胞模拟粒子。

20 因细胞中含有较大量的蛋白质，为制备更稳定的红细胞模拟粒子，本发明人认为，除了需要进行球形化处理外，还需要进行变性处理使细胞膜骨架蛋白和血红蛋白构象改变。而常用的蛋白质变性剂为强酸、强碱、含重金属的盐、尿素、丙酮等，各类变性剂其作用原理不尽相同，但重金属盐对于增加细胞模拟粒子的稳定性有着显著的效果，然而重金属对环境有严重的污染作用。根据越来越严格的环境保护要求，需要更为环境友好的
25 试剂对重金属盐进行替换，本发明人在大量的实验中发现，卤素的含氧酸

盐通过对红细胞中膜蛋白（或者还包括血红蛋白）由变性作用，在同时进行固定处理的情况下，甚至不需要进行球形化处理，同样能够获得在血液细胞分析仪中行为与新鲜血液样本类似的、且稳定红细胞粒子，从而得到本发明。

- 5 与现有技术中使用的重金属含氧酸盐（诸如重铬酸盐或铬酸盐）相比，本发明的氧化剂避免使用对环境造成污染的重金属，是一种更为环境友好的试剂。而且经本发明的优选实施方式处理后的红细胞粒子甚至具有更为稳定的体积。

因此，本发明的制备红细胞模拟粒子的方法包括：

- 10 采用 pH 为 5.0~9.0、渗透压为 300~800sm/kg·H₂O 的红细胞处理液对红细胞进行氧化处理和固定处理，其中，所述红细胞处理液含有选自卤素含氧酸盐的至少一种氧化剂和选自醛或酸的至少一种固定剂；和

将经所述红细胞处理液处理后的红细胞洗涤并悬浮在保存液中。

或者，作为替代方案，本发明的制备红细胞模拟粒子的方法包括：

- 15 采用 pH 为 5.0~9.0、渗透压为 300~800sm/kg·H₂O 的第一红细胞处理液对红细胞进行氧化处理，其中，所述第一红细胞处理液含有选自卤素含氧酸盐的至少一种氧化剂；

- 采用 pH 为 5.0~9.0、渗透压为 300~800sm/kg·H₂O 的第二红细胞处理液对红细胞进行固定处理，其中，所述第二红细胞处理液含有选自醛或酸的
20 至少一种固定剂；和

将经所述第一红细胞处理液处理和所述第二细胞处理液后的红细胞洗涤并悬浮在保存液中。

即，根据本发明的方法，所述氧化处理和所述固定处理可以在一个溶液中同时进行，也可先进行氧化处理，再进行固定处理

- 25 本发明的上述两种方案中，卤素含氧酸盐可为氯、溴或碘的次卤酸盐、

亚卤酸盐、卤酸盐或高卤酸盐，特别是碱金属盐。

优选地，本发明的卤素含氧酸盐可选自次氯酸钠、次氯酸钾、亚氯酸钠、亚氯酸钾、氯酸钠、氯酸钾、高氯酸钠、高氯酸钾、溴酸钠、溴酸钾、碘酸钠、碘酸钾、高碘酸钠和高碘酸钾。进一步优选的是高氯酸钠、高氯酸钾、溴酸钠、溴酸钾、氯酸钠和/或氯酸钾。最优选的是溴酸盐，特别是溴酸钠。

本发明的所述至少一种氧化剂在所述红细胞处理液中的浓度为0.01~20g/L，优选为0.025~10g/L，更优选为0.025~5g/L，进一步优选为0.025~2g/L。

由于不同氧化剂的氧化能力有一些差异，因此为获得所需效果，本领域技术人员可以根据具体情况确定不同氧化剂的适宜浓度范围。

较佳地，氧化剂可为，例如，高氯酸盐、尤其是高氯酸钠，其在红细胞处理液中的浓度可为8~20g/L，优选为8~10g/L；或者溴酸盐、尤其是溴酸钠，其在红细胞处理液中的浓度为0.25~2g/L、优选为0.25~1g/L，更优选为0.25~0.5g/L；或者，氯酸盐、尤其是氯酸钠，其在红细胞处理液中的浓度为0.5~2g/L、优选为0.5~1g/L。

溴酸盐、尤其是溴酸钠是本发明优选的。因为采用溴酸盐的处理浓度低，且在与下述固定剂的配合下能够获得更为稳定的（特别是体积稳定）红细胞模拟粒子。根据以下具体实施例可知，采用不同浓度的溴酸盐对红细胞粒子进行处理得到的模拟粒子，在18周的连续测定实验中，体积变化仅为约1飞升。

本发明的上述两种方案中，固定剂可为醛或酸。例如，固定剂可选自由甲醛、戊二醛、乙二醛、丙酮醛、对三氟甲基苯甲醛、多聚甲醛、铬酸、苦味酸、单宁酸和醋酸所组成的组中的一种或多种。

本发明的上述两种方案中，固定剂在处理液（对于第一种方案为红细

胞处理液，对于第二种方案为第二红细胞处理液）中的体积浓度均可在 0.01~0.5 vol% 的范围内。

用于本发明方法的两种方案的红细胞处理液还包含必要的缓冲剂，和可选的渗透压调节剂，以获得合适的 pH 值和渗透压。

5 本发明中，缓冲剂没有特别限制，可以是任何适于红细胞的缓冲剂。可以列举包括：柠檬酸钠、Tris、PBS、HEPES 等，但不限于此。同样的，渗透压调节剂也没有特别限制。适宜的渗透压调节剂包括：氯化钠、磷酸二氢钠、氯化钾、柠檬酸钠等，但不限于此。

10 选择缓冲剂和渗透压调节剂的浓度，使本发明的红细胞处理液的渗透压在 300~800sm/kg·H₂O 的范围内，pH 值在 5.0~9.0 的范围内。

进一步地，本发明的红细胞处理液还可包含防腐剂，例如叠氮化物（如叠氮化钠）和卡松类，如 proclin 系列（如 proclin300，proclin950）等，但不限于此。防腐剂的用量通常为 0.01~10g/L。

15 在本发明的上述两种方案中，在用本发明红细胞处理液（如果是分开进行氧化处理和固化处理，则是第一和第二红细胞处理液）进行处理的步骤，（第一/第二）红细胞处理液与待处理的红细胞均可以约 1~2:1 的比例混合，以进行相应的处理。处理时间通常为 1~3 小时。

根据本发明的第二方案的制备方法中，进行所述氧化处理后，用缓冲液洗涤经氧化处理的红细胞，然后进行所述固定处理。

20 此外，在第一方案中，在进行了氧化-固定处理后，或在第二方案中，在进行了固定处理后，均可用缓冲液洗涤经氧化-固定处理的红细胞，然后再将洗涤后的红细胞悬浮在保存液中。

用于洗涤的缓冲剂也没有特别限制，可以列举的有柠檬酸钠缓冲液、Tris 缓冲液、PBS 缓冲液或 HEPES 缓冲液。所述缓冲液也同样应具有 5.0~9.0 的 pH 值和 300~800sm/kg·H₂O 的渗透压。

25

在本发明的第一和第二方案中，同样的，保存液的 pH 为 5.0~9.0、渗透压为 300~800sm/kg·H₂O。

根据一种实例，保存液包括 0.01~10 g/L 的防腐剂 and 0.01~5 g/L 的稳定剂。

5 具体地，防腐剂为选自叠氮化物、卡松类和氨基糖苷类抗生素中的至少一种；稳定剂为选自咪唑烷基脲类中的至少一种，优选包含至少一种卡松类防腐剂和至少一种氨基糖苷类抗生素。采用上述防腐剂和稳定剂的组合更加有利于本发明制备的红细胞模拟粒子的长期稳定。

叠氮化物的实例如叠氮化钠。

10 卡松类抑菌剂的实例有 proclin 系列，如 proclin300，proclin950 等。

氨基糖苷类抗生素的实例有硫酸链霉素、硫酸卡那霉素、硫酸新霉素等。

咪唑烷基脲类的实例有咪唑烷基脲、双咪唑烷基脲等。

本发明的保存剂还包括缓冲剂，以及可选的渗透压调节剂。进一步地，
15 所述保存剂还可包括葡萄糖。

其中缓冲剂、渗透压调节剂如前文所述。

本发明的保存剂有助于包括红细胞模拟粒子的血细胞模拟粒子的稳定保存。

在本发明的上述两种方案中，本发明制备红细胞模拟粒子的方法进一步包括，在用所述（第一）红细胞处理液对红细胞进行处理之前，对所述
20 红细胞进行球形化处理的步骤。

所述球形化处理的步骤可采用适宜的表面活性剂来进行。本发明对表面活性剂的种类及浓度没有特别限制，只要能够使红细胞球形化且不会破坏细胞的表面活性剂及其适宜浓度均可用于本发明。特别优选烷基季铵类
25 阳离子表面活性剂或烷基磺酸类阴离子表面活性剂，但不限于此。

具体的表面活性剂及处理方法可采用 CN105717312A 中公开的那些表面活性剂及处理方法。CN105717312A 全文通过引用合并于本文。

红细胞球形化进一步有助于在后续处理或长期放置中细胞形态和体积保持稳定。

5 当然，如前所述，本发明在不进行球形化处理的情况下，仍能得到所需性能的红细胞模拟粒子。

本发明制备红细胞模拟粒子的方法中所用的红细胞为来自哺乳动物的天然红细胞，优选来自人类或红细胞体积与人类接近的哺乳动物，例如猴或猪，其中人红细胞是更优选的。

10 由上述方法获得的红细胞模拟粒子可用于血液细胞分析仪的质控物或校准物中。所述质控物或校准物用于模拟人类的血液样本，对分析仪的红细胞检测结果进行监控和校准。用于血液细胞分析仪的质控物或校准物通常还含有白细胞模拟粒子、血小板模拟粒子和有核红细胞模拟粒子中的至少一种。

15 以下通过具体实施例来进一步说明本发明的优点。

对比例 1：重金属离子处理

按以下步骤制备红细胞模拟粒子：

(1) 按下表配制红细胞处理液。

序号	组分名称	组分量
1	叠氮化钠	10g
2	重铬酸钾	0.625g
3	氯化钠	9g
4	甲醛	0.5ml
5	纯水	1L
pH 为 8.0，渗透压为 400 Osm/kg.H ₂ O		

(2) 取人抗凝血 20ml 使用生理盐水洗涤 2 次以上，离心至上清液中
20 无过多悬浮细胞，弃去上清液，得到含有红细胞的血液样本。将该含有红

细胞的血液样本与上述红细胞处理液按照体积比为 1:1 的比例混合, 混匀后放置于室温下静置 1 小时, 对红细胞进行氧化和固定化处理。

(3) 将经步骤 (2) 处理后的红细胞使用生理盐水洗涤 3 次, 然后使用 pH 为 8.0, 渗透压为 350 Osm/kg.H₂O 的保存液悬浮红细胞, 得到红细胞模拟粒子, 于 2-8℃ 保存。

其中, 保存液按下表配制。

序号	组分名称	组分量
1	葡萄糖	10g
2	Proclin 300	3ml
3	硫酸链霉素	0.2g
4	硫酸卡那霉素	0.2g
5	咪唑烷基脲	0.3g
6	HEPES 缓冲液	1L

将对比例 1 中红细胞模拟粒子在血细胞分析仪上连续进行 18 周的平均红细胞体积 (MCV) 检测, 每周检测不少于 2 次, 取 MCV 的平均值。检测结果如图 1 所示。测得整个检测期间的 MCV 的极差 (变化最大值) 为 1.6fl, SD (标准偏差) 为 0.42。

实施例 1: 用约 8g/L 高氯酸钠处理

按以下步骤制备红细胞模拟粒子:

(1) 按下表配制红细胞处理液。

序号	组分名称	组分量
1	Proclin 300	3ml
2	高氯酸钠	8g
3	戊二醛	0.5ml
4	HEPES 缓冲液	1L
pH 为 8.0, 渗透压为 400 Osm/kg.H ₂ O		

(2) 按下表配制保存液。

序号	组分名称	组分量
----	------	-----

1	葡萄糖	10g
2	Proclin 300	3ml
3	硫酸链霉素	0.2g
4	硫酸卡那霉素	0.2g
5	咪唑烷基脲	0.3g
6	HEPES 缓冲液	1L
pH 为 8.0, 渗透压为 350 Osm/kg.H ₂ O		

(3) 取人抗凝血 20ml 进行过滤、离心去除白细胞和血小板, 用 HEPES 缓冲液洗涤 2 次, 弃去上清液, 保留压积红细胞, 得到含有红细胞的血液样本。将该含有红细胞的血液样本与上述红细胞处理液按照体积比为 1:1 的比例混合, 混匀后放置于室温下静置 3 小时, 对红细胞进行氧化和固定化处理。

(4) 将经步骤 (2) 处理后的红细胞使用 HEPES 缓冲液洗涤 3 次, 然后使用上述保存液悬浮红细胞, 得到红细胞模拟粒子, 于 2-8℃ 保存。

将实施例 1 中红细胞模拟粒子在血细胞分析仪上连续进行 18 周的 MCV 检测, 每周检测不少于 2 次, 取 MCV 的平均值。检测结果如图 2 所示。测得整个检测期间的 MCV 的极差 (变化最大值) 为 1.4fl, SD (标准偏差) 为 0.46。

实施例 2: 用约 10 g/L 高氯酸钠处理

按以下步骤制备红细胞模拟粒子:

(1) 按下表配制红细胞处理液。

序号	组分名称	组分量
1	Proclin 300	3ml
2	高氯酸钠	10g
3	柠檬酸钠	9g
4	甲醛	0.5ml
5	纯水	1L
pH 为 8.0, 渗透压为 400 Osm/kg.H ₂ O		

(2) 按实施例 1 的配方配制保存液。

(3) 取人抗凝血 20ml 进行过滤、离心去除白细胞和血小板，用柠檬酸钠缓冲液洗涤 2 次，弃去上清液，保留压积红细胞，得到含有红细胞的血液样本。将该含有红细胞的血液样本与上述红细胞处理液按照体积比为 1:1 的比例混合，混匀后放置于室温下静置 2 小时，对红细胞进行氧化和固定化处理。

(4) 将经步骤 (2) 处理后的红细胞使用柠檬酸钠缓冲液洗涤 3 次，然后使用上述保存液悬浮红细胞，得到红细胞模拟粒子，于 2-8℃ 保存。

将实施例 2 中红细胞模拟粒子在血细胞分析仪上连续进行 18 周的 MCV 检测，每周检测不少于 2 次，取 MCV 的平均值。检测结果如图 3 所示。测得整个检测期间的 MCV 的极差（变化最大值）为 1.3fl，SD（标准偏差）为 0.38。

实施例 3：用约 0.25 g/L 溴酸钠处理

按以下步骤制备红细胞模拟粒子：

(1) 按下表配制红细胞处理液。

序号	组分名称	组分量
1	Proclin 300	3ml
2	溴酸钠	0.25g
3	乙二醛	0.5ml
4	PBS 缓冲液	1L
pH 为 8.0，渗透压为 400 Osm/kg.H ₂ O		

(2) 按下表配制保存液。

序号	组分名称	组分量
1	葡萄糖	10g
2	Proclin 300	2ml
3	Proclin 950	1ml
4	硫酸链霉素	0.2g
5	硫酸卡那霉素	0.2g

6	双咪唑烷基脲	2.0g
7	PBS 缓冲液	1L
pH 为 7.4, 渗透压为 400 Osm/kg.H ₂ O		

(3) 取人抗凝血 20ml 进行过滤、离心去除白细胞和血小板, 用 PBS 缓冲液洗涤 2 次, 弃去上清液, 保留压积红细胞, 得到含有红细胞的血液样本。将该含有红细胞的血液样本与上述红细胞处理液按照体积比为 1:1 的比例混合, 混匀后放置于室温下静置 1 小时, 对红细胞进行氧化和固定化处理。

(4) 将经步骤 (2) 处理后的红细胞使用 PBS 缓冲液洗涤 3 次, 然后使用上述保存液悬浮红细胞, 得到红细胞模拟粒子, 于 2-8℃ 保存。

将实施例 3 中红细胞模拟粒子在血细胞分析仪上连续进行 18 周的 MCV 检测, 每周检测不少于 2 次, 取 MCV 的平均值。检测结果如图 4 所示。测得整个检测期间的 MCV 的极差 (变化最大值) 为 1.1fl, SD (标准偏差) 为 0.32。

实施例 4: 用约 0.5 g/L 溴酸钠处理

按以下步骤制备红细胞模拟粒子:

(1) 按下表配制红细胞处理液 A 和 B。

	序号	组分名称	组分量
红细胞处理液 A	1	Proclin 300	3ml
	2	溴酸钠	0.5g
	3	Tris 缓冲液	1L
红细胞处理液 B	1	Proclin 300	3ml
	2	戊二醛	0.5ml
	3	Tris 缓冲液	1L
红细胞处理液 A 和红细胞处理液 B 的 pH 均为 8.0, 渗透压均为 400 Osm/kg.H ₂ O			

(2) 按实施例 3 的配方配制保存液。

(3) 取人抗凝血 20ml 进行过滤、离心去除白细胞和血小板, 用 Tris 缓冲液洗涤 2 次, 弃去上清液, 保留压积红细胞, 得到含有红细胞的血液样本。将该含有红细胞的血液样本与上述红细胞处理液 A 按照体积比为 1:1 的比例混合, 混匀后放置于室温下静置 1 小时, 对红细胞进行氧化处理。

5 (4) 将经步骤 (3) 处理后的红细胞使用 Tris 缓冲液洗涤 2 次以上, 然后再用 Tris 缓冲液悬浮。

(5) 将经步骤 (4) 处理后的红细胞与上述红细胞处理液 B 按照体积比为 1:1 的比例混合, 混匀后放置于室温下静置 2 小时, 对红细胞进行固定化处理, 然后使用上述保存液悬浮红细胞, 得到红细胞模拟粒子, 于 2-8°C
10 低温保存。

将实施例 4 中红细胞模拟粒子在血细胞分析仪上连续进行 18 周的 MCV 检测, 每周检测不少于 2 次, 取 MCV 的平均值。检测结果如图 5 所示。测得整个检测期间的 MCV 的极差 (变化最大值) 为 1.0fl, SD (标准偏差) 为 0.31

15

实施例 5: 用约 0.75 g/L 溴酸钠处理

按以下步骤制备红细胞模拟粒子:

(1) 按下表配制红细胞处理液。

序号	组分名称	组分量
1	Proclin 300	3ml
2	溴酸钠	0.75g
3	多聚甲醛	0.4ml
4	氯化钠	9g
5	纯水	1L
pH 为 8.0, 渗透压为 400 Osm/kg.H ₂ O		

(2) 按实施例 3 的配方配制保存液。

(3) 取人抗凝血 20ml 进行过滤、离心去除白细胞和血小板, 用 Tris 缓冲液洗涤 2 次, 弃去上清液, 保留压积红细胞, 得到含有红细胞的血液样本。将该含有红细胞的血液样本与上述红细胞处理液按照体积比为 1:1 的比例混合, 混匀后放置于室温下静置 2 小时, 对红细胞进行氧化和固定化处理。

(4) 将经步骤 (3) 处理后的红细胞使用 Tris 缓冲液洗涤 2 次以上, 然后使用上述保存液悬浮红细胞, 得到红细胞模拟粒子, 于 2-8°C 保存。

将实施例 5 中红细胞模拟粒子在血细胞分析仪上连续进行 18 周的 MCV 检测, 每周检测不少于 2 次, 取 MCV 的平均值。检测结果如图 6 所示。测得整个检测期间的 MCV 的极差 (变化最大值) 为 1.3fl, SD (标准偏差) 为 0.33。

实施例 6: 用约 1 g/L 溴酸钠处理

按以下步骤制备红细胞模拟粒子:

(1) 按下表配制红细胞处理液。

序号	组分名称	组分量
1	Proclin 300	3ml
2	溴酸钠	1g
3	对三氟甲基苯甲醛	0.6ml
4	HEPES 缓冲液	1L
pH 为 8.0, 渗透压为 400 Osm/kg.H ₂ O		

(2) 按实施例 3 的配方配制保存液。

(3) 取人抗凝血 20ml 进行过滤、离心去除白细胞和血小板, 用 HEPES 缓冲液洗涤 2 次, 弃去上清液, 保留压积红细胞, 得到含有红细胞的血液样本。将该含有红细胞的血液样本与上述红细胞处理液按照体积比为 1:1 的比例混合, 混匀后放置于室温下静置 2 小时, 对红细胞进行氧化和固定化处理。

(4) 将经步骤(3)处理后的红细胞使用 HEPES 缓冲液洗涤 2 次以上, 然后使用上述保存液悬浮红细胞,, 得到红细胞模拟粒子, 于 2-8°C 保存。

将实施例 6 中红细胞模拟粒子在血细胞分析仪上连续进行 18 周的 MCV 检测, 每周检测不少于 2 次, 取 MCV 的平均值。检测结果如图 7 所示。测得整个检测期间的 MCV 的极差(变化最大值)为 1.1fl, SD(标准偏差)为 0.31。

实施例 7: 用约 0.5g/L 氯酸钠处理

按以下步骤制备红细胞模拟粒子:

(1) 按下表配制红细胞处理液。

序号	组分名称	组分量
1	Proclin 300	3ml
2	氯酸钠	0.5g
3	丙酮醛	0.6ml
4	HEPES 缓冲液	1L
pH 为 8.0, 渗透压为 400 Osm/kg.H ₂ O		

(2) 按下表配制保存液。

序号	组分名称	组分量
1	葡萄糖	10g
2	Proclin 300	2ml
3	Proclin950	1ml
4	硫酸卡那霉素	0.2g
5	硫酸新霉素	0.2g
6	双咪唑烷基脲	0.8g
7	HEPES 缓冲液	1L
pH 为 7.2, 渗透压为 300 Osm/kg.H ₂ O		

(3) 取人抗凝血 20ml 进行过滤、离心去除白细胞和血小板, 用 HEPES 缓冲液洗涤 2 次, 弃去上清液, 保留压积红细胞, 得到含有红细胞的血液样本。将该含有红细胞的血液样本与上述红细胞处理液按照体积比为 1:1

的比例混合，混匀后放置于室温下静置 3 小时，对红细胞进行氧化和固定化处理。

(4) 将经步骤 (3) 处理后的红细胞使用 HEPES 缓冲液洗涤 2 次以上，然后使用上述保存液悬浮红细胞，得到红细胞模拟粒子，于 2-8℃ 保存。

- 5 将实施例 7 中红细胞模拟粒子在血细胞分析仪上连续进行 18 周的 MCV 检测，每周检测不少于 2 次，取 MCV 的平均值。检测结果如图 8 所示。测得整个检测期间的 MCV 的极差（变化最大值）为 1.6fl，SD（标准偏差）为 0.45。

10 实施例 8：用约 0.75g/L 氯酸钠处理

按以下步骤制备红细胞模拟粒子：

(1) 按下表配制红细胞处理液。

序号	组分名称	组分量
1	Proclin 300	3ml
2	氯酸钠	0.75g
3	戊二醛	0.5ml
4	PBS 缓冲液	1L
pH 为 8.0，渗透压为 400 Osm/kg.H ₂ O		

(2) 按实施例 7 的配方配制保存液。

- 15 (3) 取人抗凝血 20ml 进行过滤、离心去除白细胞和血小板，用 PBS 缓冲液洗涤 2 次，弃去上清液，保留压积红细胞，得到含有红细胞的血液样本。将该含有红细胞的血液样本与上述红细胞处理液按照体积比为 1:1 的比例混合，混匀后放置于室温下静置 3 小时，对红细胞进行氧化和固定化处理。

- 20 (4) 将经步骤 (3) 处理后的红细胞使用 PBS 缓冲液洗涤 2 次以上，然后使用上述保存液悬浮红细胞，得到红细胞模拟粒子，于 2-8℃ 保存。

将实施例 8 中红细胞模拟粒子在血细胞分析仪上连续进行 18 周的 MCV 检测，每周检测不少于 2 次，取 MCV 的平均值。检测结果如图 9 所示。测得整个检测期间的 MCV 的极差（变化最大值）为 2.0fl，SD（标准偏差）为 0.58。

5

实施例 9：用约 1g/L 氯酸钠处理

按以下步骤制备红细胞模拟粒子：

（1）按下表配制红细胞处理液。

序号	组分名称	组分量
1	Proclin 300	3ml
2	氯酸钠	1g
3	甲醛	0.5ml
4	PBS 缓冲液	1L
pH 为 8.0，渗透压为 400 Osm/kg.H ₂ O		

（2）按实施例 7 的配方配制保存液。

10

（3）取人抗凝血 20ml 进行过滤、离心去除白细胞和血小板，用 PBS 缓冲液洗涤 2 次，弃去上清液，保留压积红细胞，得到含有红细胞的血液样本。将该含有红细胞的血液样本与上述红细胞处理液按照体积比为 1:1 的比例混合，混匀后放置于室温下静置 3 小时，对红细胞进行氧化固定化处理。

15

（4）将经步骤（3）处理后的红细胞使用 PBS 缓冲液洗涤 2 次以上，然后使用上述保存液悬浮红细胞，得到红细胞模拟粒子，于 2-8℃保存。

将实施例 9 中红细胞模拟粒子在血细胞分析仪上连续进行 18 周的 MCV 检测，每周检测不少于 2 次，取 MCV 的平均值。检测结果如图 10 所示。测得整个检测期间的 MCV 的极差（变化最大值）为 2.1fl，SD（标准偏差）为 0.66。

20

实施例 10：用约 2g/L 氯酸钠处理

按以下步骤制备红细胞模拟粒子：

(1) 按下表配制红细胞处理液。

序号	组分名称	组分量
1	Proclin 300	3ml
2	氯酸钠	2g
3	甲醛	0.5ml
4	PBS 缓冲液	1L
pH 为 8.0，渗透压为 400 Osm/kg.H ₂ O		

(2) 按实施例 7 的配方配制保存液。(3) 取人抗凝血 20ml 进行过滤、
5 离心去除白细胞和血小板，用 PBS 缓冲液洗涤 2 次，弃去上清液，保留压
积红细胞，得到含有红细胞的血液样本。将该含有红细胞的血液样本与上
述红细胞处理液按照体积比为 1:1 的比例混合，混匀后放置于室温下静置 3
小时，对红细胞进行氧化和固定化处理。

(4) 将经步骤 (3) 处理后的红细胞使用 HEPES 缓冲液洗涤 2 次以上，
10 然后使用上述保存液悬浮红细胞，得到红细胞模拟粒子，于 2-8℃ 保存。

将实施例 10 中红细胞模拟粒子在血细胞分析仪上连续进行 18 周的
MCV 检测，每周检测不少于 2 次，取 MCV 的平均值。检测结果如图 11 所
示。测得整个检测期间的 MCV 的极差（变化最大值）为 3.3fl，SD（标准
偏差）为 0.97。

15

实施例 11：血液细胞分析质控物

按以下方法制备血液细胞分析质控物：

将白细胞模拟粒子、血小板模拟粒子及实施例 6 制得的悬浮在保存液
中的红细胞模拟粒子按一定比例混合均匀，制成血液细胞分析质控物，在
20 2~8℃ 低温保存。这里的白细胞模拟粒子和血小板模拟粒子可以用商品化的
产品，也可以是用常规或已知方法制备的模拟物，在此可以为迈瑞

BR60/B55/B30 的白细胞模拟粒子和迈瑞 BR60/B55/B30 的血小板模拟粒子，优选通过洗涤离心方式置换为红细胞模拟粒子相同的保存液。

将上述血液细胞分析质控物在血液细胞分析仪上的连续进行 18 周的 MCV 检测，每周检测不少于 2 次，取 MCV 的平均值。检测结果如图 12 所示。测得整个检测期间的 MCV 的极差（变化最大值）为 1.3fL，SD 为 0.32。

进一步将本实施例的质控品与人新鲜抗凝血作为分析样本，分别注入血液细胞分析仪（迈瑞 BC6 系列血液分析仪），进行检测，结果如图 13 所示。图 13（a）为新鲜血液样本在血细胞分析仪上获得的 WBC 的荧光-散射光二维散点图（a1）和 RBC 的直方图（a2）；图 13（b）为本实施例的血液细胞分析质控物（包括白细胞模拟粒子、血小板模拟粒子及实施例 6 制得的悬浮在保存液中的红细胞模拟粒子）在血液细胞分析仪上的 WBC 的荧光-散射光二维散点图（b1）和 RBC 的直方图（b2）。

结果表明，本方法制备的红细胞模拟粒子具有和新鲜血红细胞类似的体积，也具有和新鲜血红细胞类似的溶血性，在 diff 分类图上不影响白细胞的分类。这说明含本申请方法制备的红细胞模拟粒子的质控物与新鲜血相比，在血液分析仪上表现类似。

以上所述仅为本发明的部分实施方式的实例，并非因此限制本发明的专利范围，凡是在本发明的发明构思下，利用本发明说明书及附图内容所作的等效结构变换，或直接/间接运用在其他相关的技术领域均包括在本发明的专利保护范围内。

权利要求书

1、一种制备红细胞模拟粒子的方法，所述方法包括：

采用 pH 为 5.0~9.0、渗透压为 300~800sm/kg·H₂O 的红细胞处理液对红细胞进行氧化处理和固定处理，其中，所述红细胞处理液含有选自卤素含
5 氧酸盐的至少一种氧化剂和选自醛或酸的至少一种固定剂；和

将经所述红细胞处理液处理后的红细胞洗涤并悬浮在保存液中。

2、根据权利要求 1 所述的方法，其中所述至少一种氧化剂选自由氯、溴和碘的次卤酸盐、亚卤酸盐、卤酸盐和高卤酸盐所组成的组；优选地，所述至少一种氧化剂选自由次氯酸、亚氯酸、氯酸、高氯酸、溴酸、碘酸
10 和高碘酸的钠盐和钾盐所组成的组；进一步优选，所述至少一种氧化剂选自由高氯酸钠、高氯酸钾、溴酸钠、溴酸钾、氯酸钠和氯酸钾所组成的组。

3、根据权利要求 1 或 2 所述的方法，其中所述至少一种氧化剂在所述红细胞处理液中的浓度为 0.01~20g/L，优选为 0.05~10g/L，更优选为 0.05~5 g/L。

15 4、根据权利要求 3 所述的方法，其中所述至少一种氧化剂为高氯酸盐、尤其是高氯酸钠并且在所述红细胞处理液中的浓度为 8~20g/L，优选为 8~10g/L；或者所述至少一种氧化剂为溴酸盐、尤其是溴酸钠并且在所述红细胞处理液中的浓度为 0.25~2g/L、优选为 0.25~1g/L，更优选为 0.25~0.5g/L；或者所述至少一种氧化剂为氯酸盐、尤其是氯酸钠并且在所述红细胞处理
20 液中的浓度为 0.5~2g/L、优选为 0.5~1g/L。

5、根据权利要求 1~4 中任一项所述的方法，其中所述至少一种固定剂选自由甲醛、戊二醛、乙二醛、丙酮醛、对三氟甲基苯甲醛、多聚甲醛、铬酸、苦味酸、单宁酸和醋酸所组成的组。

6、根据权利要求 1~5 中任一项所述的方法，其中所述至少一种固定剂
25 在所述红细胞处理液中的体积浓度为 0.01~0.5 vol%。

7、根据权利要求 1~6 中任一项所述的方法，其中所述方法进一步包括：在用所述红细胞处理液对红细胞进行氧化处理和固定处理之前，对所述红细胞进行球形化处理。

8、一种制备红细胞模拟粒子的方法，所述方法包括：

5 采用 pH 为 5.0~9.0、渗透压为 300~800sm/kg·H₂O 的第一红细胞处理液对红细胞进行氧化处理，其中，所述第一红细胞处理液含有选自卤素含氧酸盐的至少一种氧化剂；

采用 pH 为 5.0~9.0、渗透压为 300~800sm/kg·H₂O 的第二红细胞处理液对红细胞进行固定处理，其中，所述第二红细胞处理液含有选自醛或酸的至少一种固定剂；和

10 将经所述第一红细胞处理液处理和所述第二细胞处理液后的红细胞洗涤并悬浮在保存液中。

9、根据权利要求 8 所述的方法，其中所述至少一种氧化剂选自由氯、溴和碘的次卤酸盐、亚卤酸盐、卤酸盐和高卤酸盐所组成的组；优选地，
15 所述至少一种氧化剂选自由次氯酸、亚氯酸、氯酸、高氯酸、溴酸、碘酸和高碘酸的钠盐和钾盐所组成的组；进一步优选，所述至少一种氧化剂选自由高氯酸钠、高氯酸钾、溴酸钠、溴酸钾、氯酸钠和氯酸钾所组成的组。

10、根据权利要求 8 或 9 所述的方法，其中所述至少一种氧化剂在所述第一红细胞处理液中的浓度为 0.01~20g/L，更优选为 0.05~10g/L，优选为
20 0.05~5 g/L。

11、根据权利要求 10 所述的方法，其中所述至少一种氧化剂为高氯酸盐、尤其是高氯酸钠并且在所述第一红细胞处理液中的浓度为 8~20g/L，优选为 8~10g/L；或者所述至少一种氧化剂为溴酸盐、尤其是溴酸钠并且在所述第一红细胞处理液中的浓度为 0.25~2g/L、优选为 0.25~1g/L，更优选
25 0.25~0.5g/L；或者所述至少一种氧化剂为氯酸盐、尤其是氯酸钠并且在所

述第一红细胞处理液中的浓度为 0.5~2g/L、优选为 0.5~1g/L。

12、根据权利要求 8~11 中任一项所述的方法，其中所述至少一种固定剂选自由甲醛、戊二醛、乙二醛、丙酮醛、对三氟甲基苯甲醛、多聚甲醛、铬酸、苦味酸、单宁酸和醋酸所组成的组。

5 13、根据权利要求 8~12 中任一项所述的方法，其中所述至少一种固定剂在所述第二红细胞处理液中的体积浓度为 0.01~0.5 vol%。

14、根据权利要求 8~13 中任一项所述的方法，其中进行所述氧化处理后，用缓冲液洗涤经氧化处理的红细胞，然后进行所述固定处理。

10 15、根据权利要求 8~14 中任一项所述的方法，其中所述方法进一步包括：在用所述第一红细胞处理液对红细胞进行氧化处理之前，对所述红细胞进行球形化处理。

16、根据权利要求 1 至 15 所述的方法，其中所述保存液的 pH 为 5.0~9.0、渗透压为 300~8000sm/kg·H₂O 且包括 0.01~10 g/L 的防腐剂和 0.01~5 g/L 的稳定剂，

15 优选地，所述防腐剂为选自卡松类和氨基糖苷类抗生素中的至少一种，所述稳定剂为选自咪唑烷基脲类中的至少一种；

更优选，所述防腐剂为至少一种卡松类防腐剂和至少一种氨基糖苷类抗生素。

20 17、根据权利要求 1~16 中任一项所述的方法，其中所述红细胞来自哺乳动物，优选来自人类或红细胞体积与人类接近的哺乳动物，例如猴或猪。

18、一种红细胞模拟粒子，由根据权利要求 1~17 中任一项所述的方法制备得到。

19、一种用于血液细胞分析仪的质控物或校准物，包括根据权利要求 18 所述的红细胞模拟粒子。

25 20、根据权利要求 19 所述的质控物或校准物，其中，所述质控物或校

准物还含有白细胞模拟粒子、血小板模拟粒子和有核红细胞模拟粒子中的至少一种。

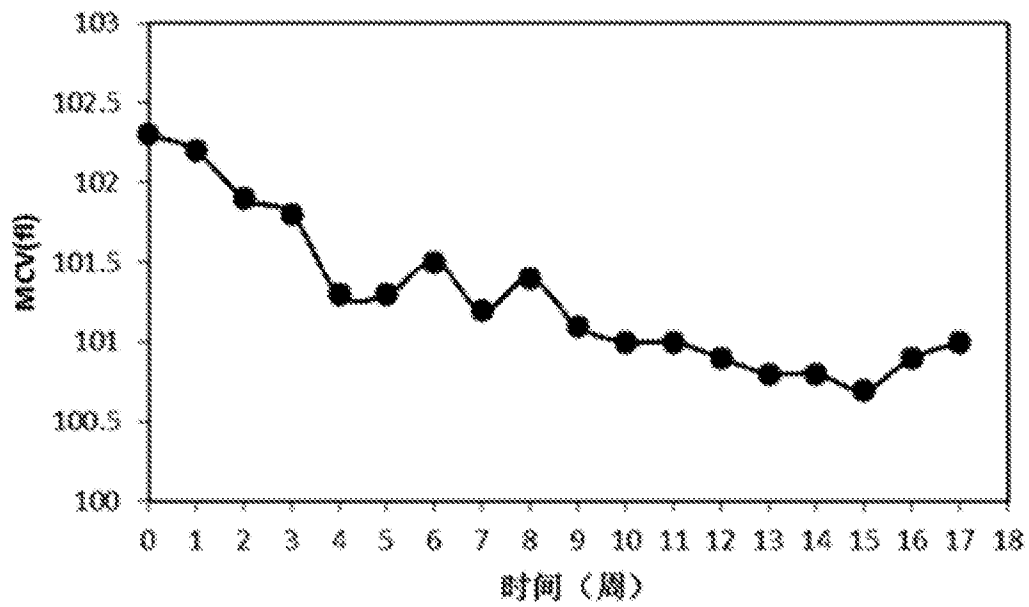


图 1

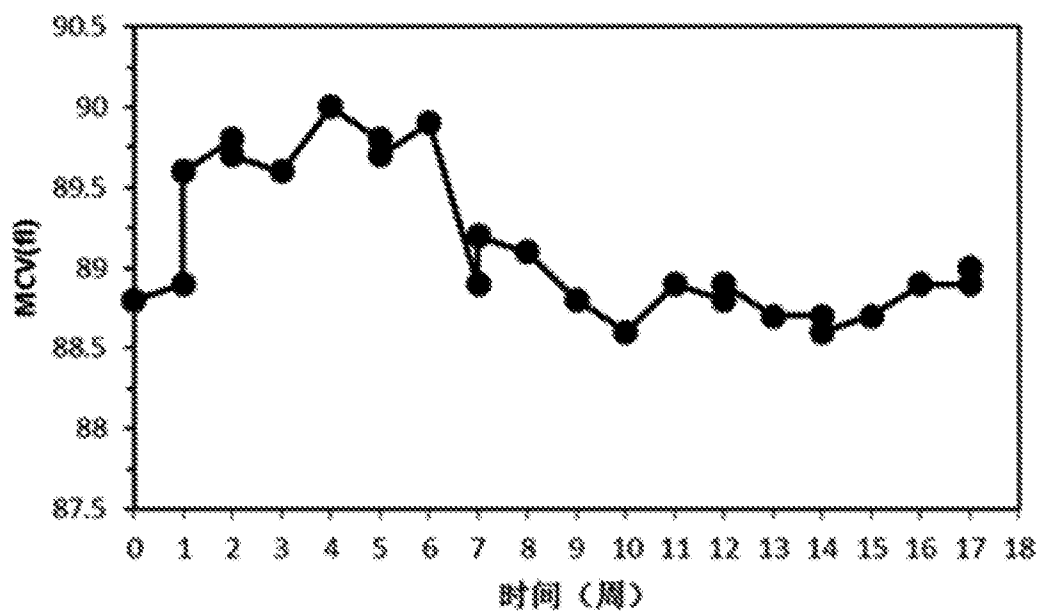


图 2

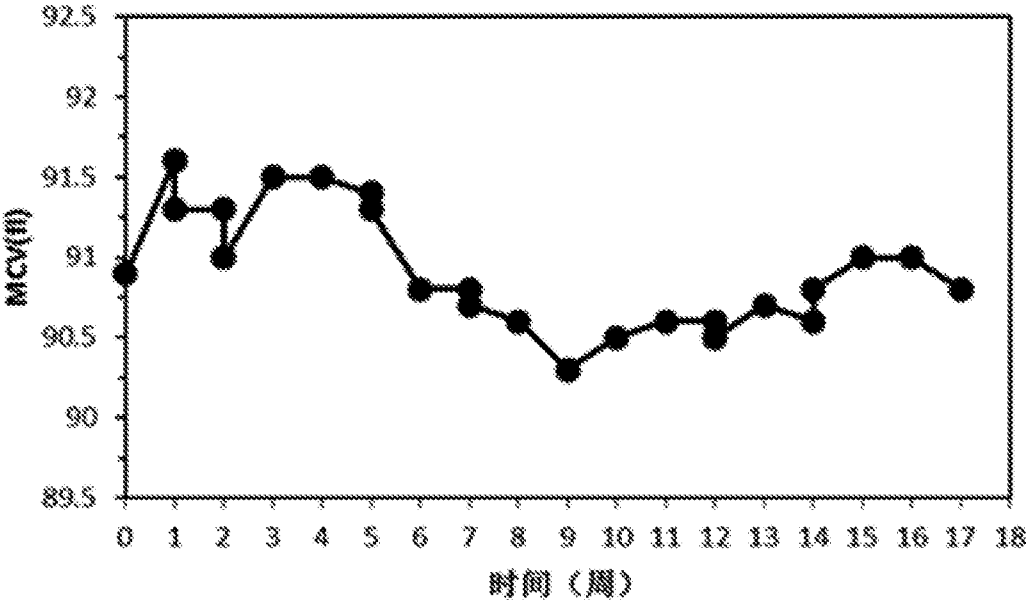


图 3

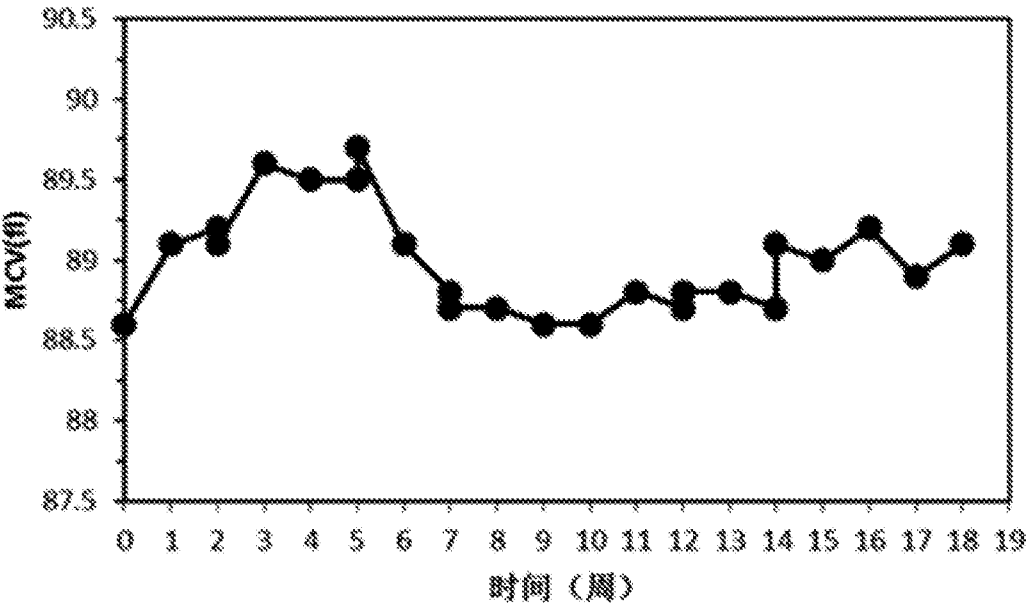


图 4

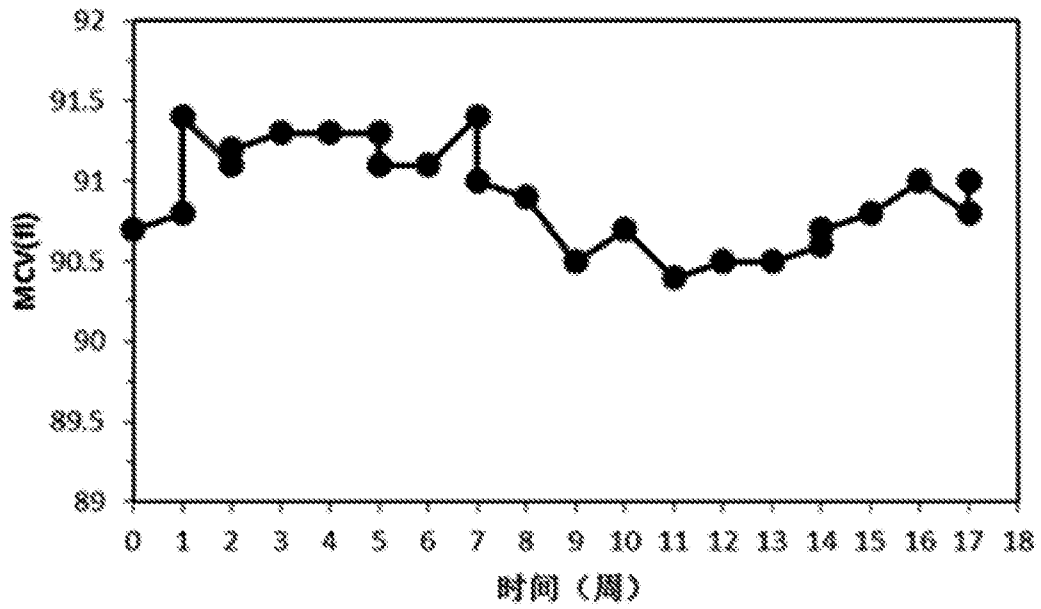


图 5

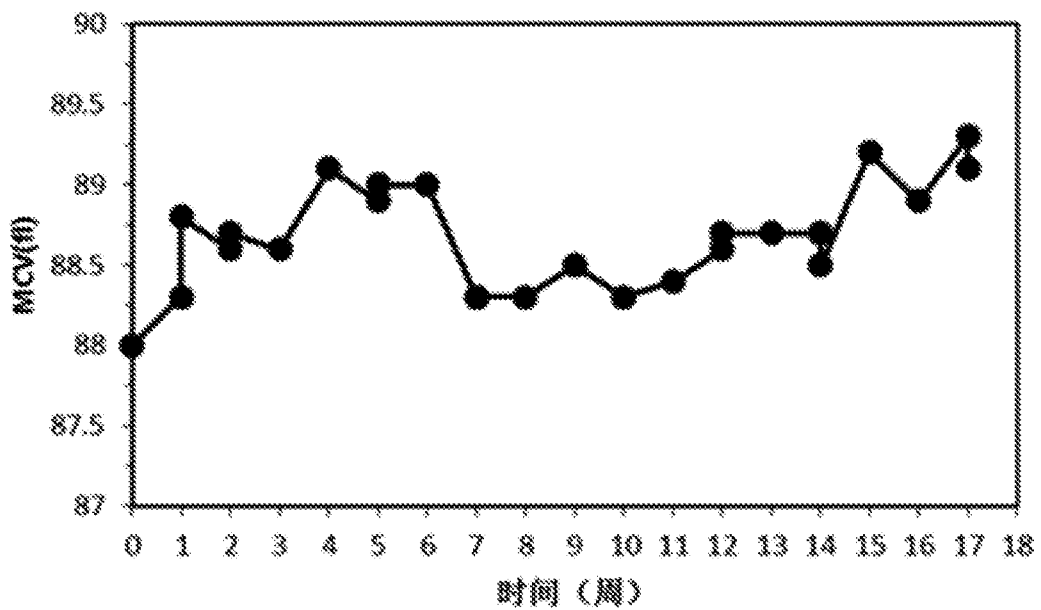


图 6

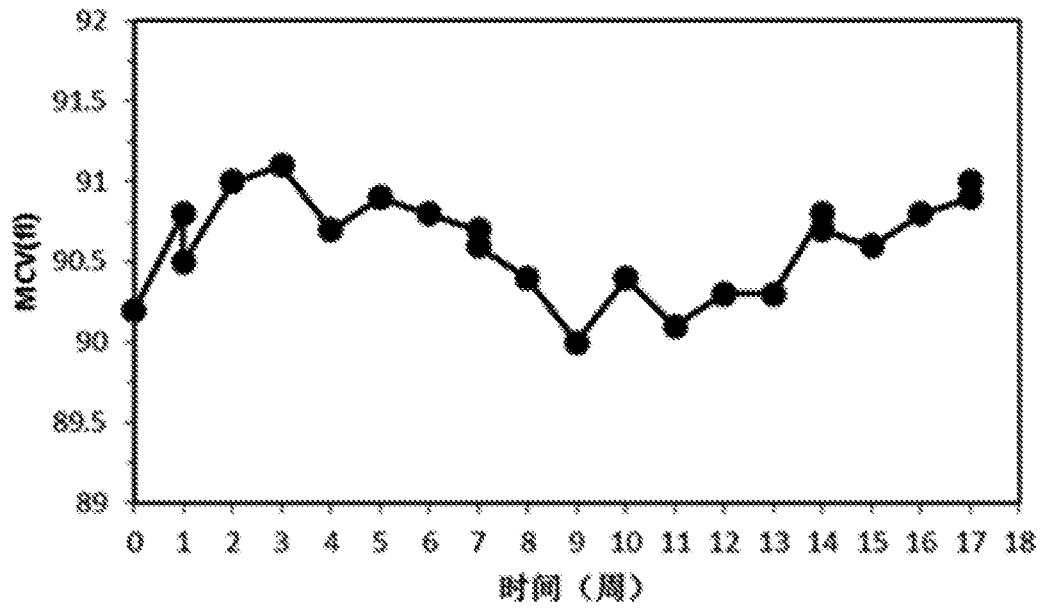


图 7

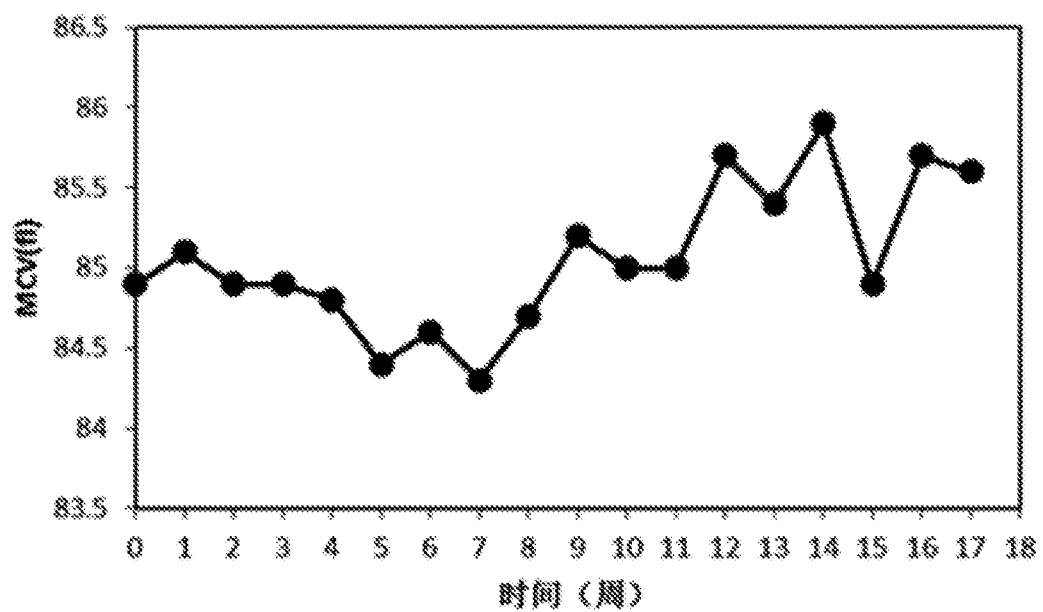


图 8

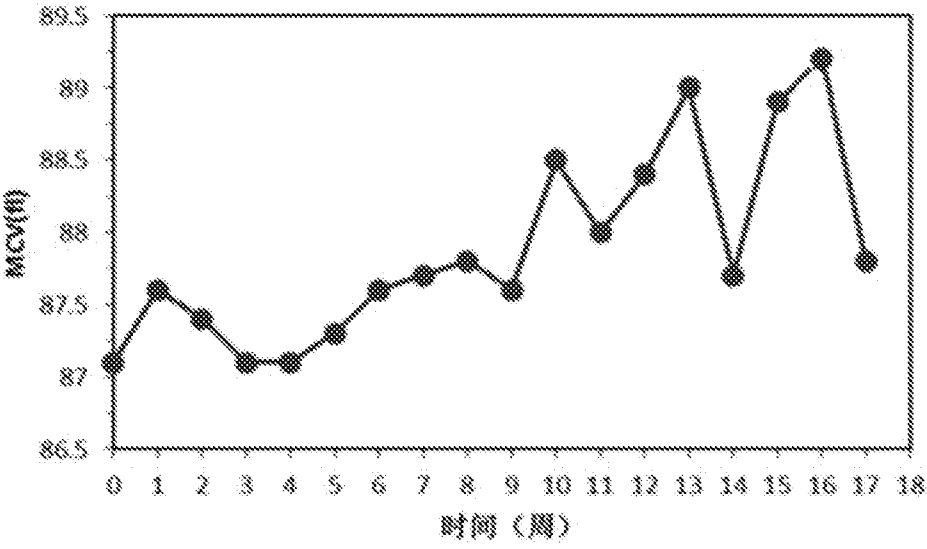


图 9

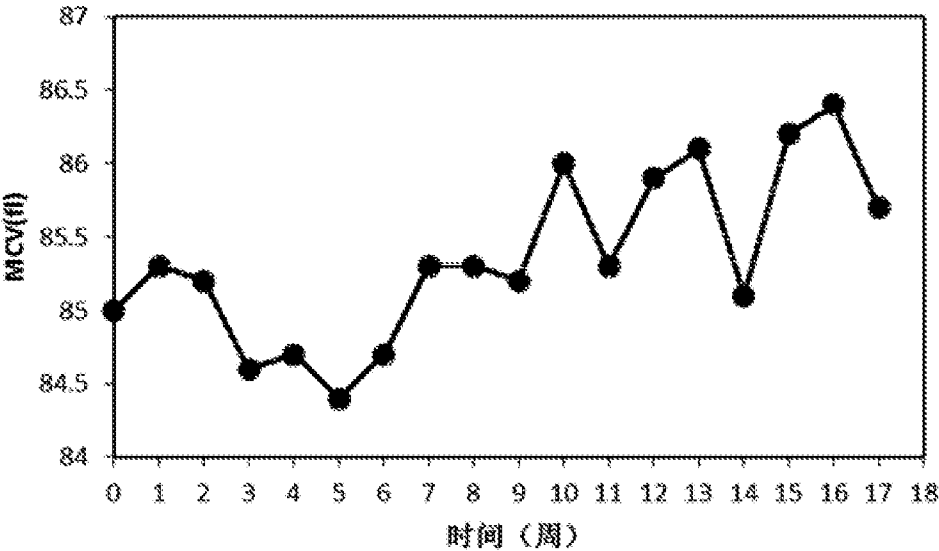


图 10

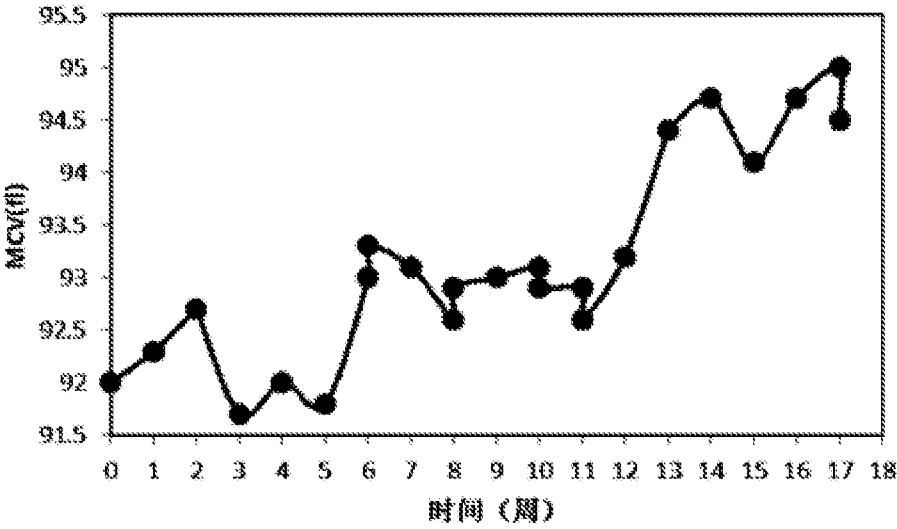


图 11

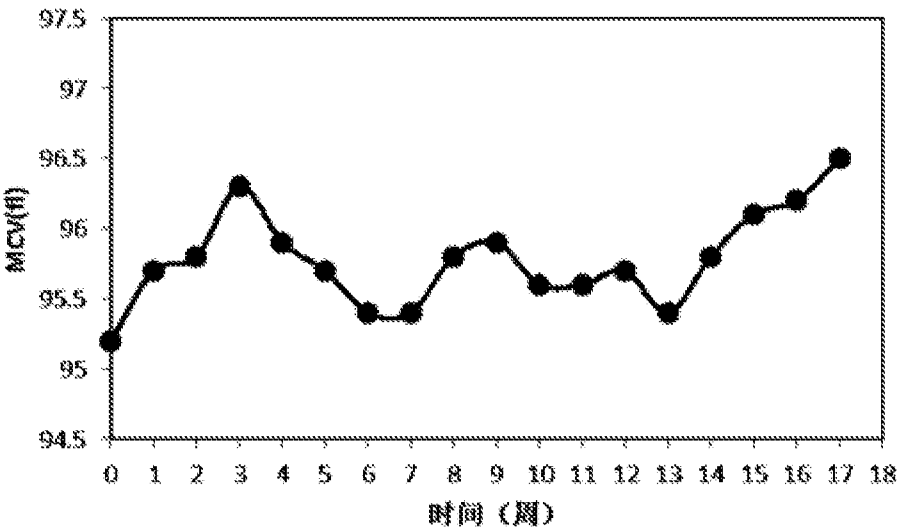
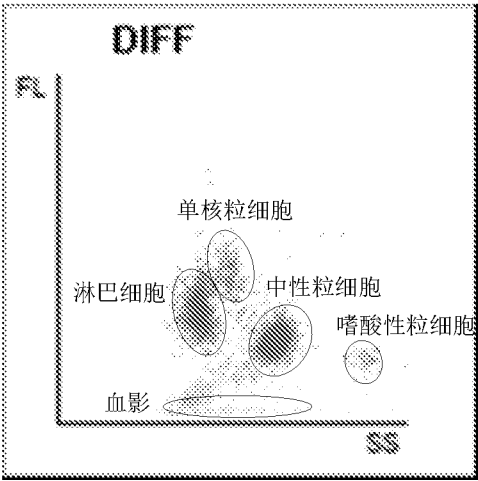
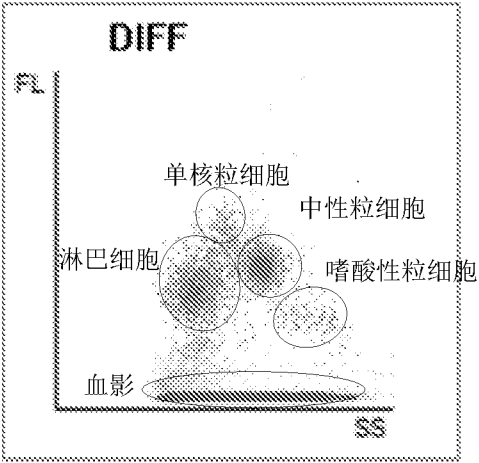


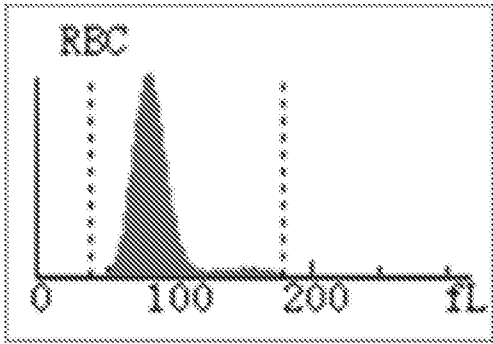
图 12



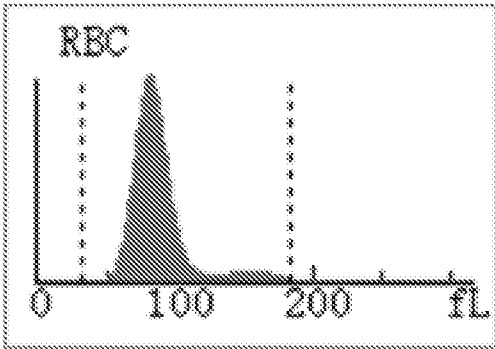
(a1)



(b1)



(a2)



(b2)

图 13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/123529

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/96(2006.01)i

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)

G01N

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)

CNPAT, CNKI, WPI, EPODOC: 迈瑞生物医疗, 宋瑞霞, 谢键, 红细胞, 模拟, 类似, 质控, 校准, 标准, 卤素, 氯, 溴, 碘, (含氧酸或卤酸或次卤酸或亚卤酸或高卤酸或次氯酸或亚氯酸或氯酸或高氯酸或溴酸或碘酸或高碘酸) 3d (盐 or 钾 or 钠), red blood cell?, erythrocyte?, RBC?, analog?, simulacrum, mimics, mimetics, simulat+, control?, standard?, calibrat+, halogen 2d acid?, halogen 2d oxysalt?, perchlorate?, chlorate?, hypochlorite?, chlorite?, bromite?, hypobromite?, bromate?, perbromate?, iodate?, periodate?, hypoiodite?, iodite?, NaClO+, KClO+, NaBrO+, KBrO+, NaIO+, KIO+

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 105717312 A (SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.) 29 June 2016 (2016-06-29) claims 3-10, and description, paragraphs [0010]-[0047]	1-20
A	CN 107723333 A (DIRUI INDUSTRIAL CO., LTD.) 23 February 2018 (2018-02-23) entire document	1-20
A	CN 107076766 A (SHENZHEN MINDRAY BIOMEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.) 18 August 2017 (2017-08-18) entire document	1-20
A	CN 101668854 A (SIERRA MOLECULAR CORP.) 10 March 2010 (2010-03-10) entire document	1-20
A	CN 103454410 A (GUILIN URIT MEDICAL ELECTRONIC CO., LTD.) 18 December 2013 (2013-12-18) entire document	1-20



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

30 August 2019

Date of mailing of the international search report

23 September 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

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

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/123529**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 9528915 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 02 November 1995 (1995-11-02) entire document	1-20
A	US 2012308985 A1 (STRECK, INC.) 06 December 2012 (2012-12-06) entire document	1-20
A	US 2005136409 A1 (BECKMAN COULTER, INC.) 23 June 2005 (2005-06-23) entire document	1-20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2018/123529

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	105717312	A	29 June 2016	CN	105717312	B	06 July 2018
CN	107723333	A	23 February 2018	None			
CN	107076766	A	18 August 2017	CN	107076766	B	12 July 2019
				WO	2016090579	A1	16 June 2016
CN	101668854	A	10 March 2010	JP	2010535013	A	18 November 2010
				US	2011165610	A1	07 July 2011
				US	2014072976	A1	13 March 2014
				WO	2008113017	A2	18 September 2008
				EP	2129780	A2	09 December 2009
				CA	2680801	A1	18 September 2008
				AU	2008224883	A1	08 October 2009
				KR	20100015578	A	12 February 2010
				IN	200906117	P1	18 June 2010
CN	103454410	A	18 December 2013	CN	103454410	B	15 April 2015
WO	9528915	A1	02 November 1995	EP	0758226	A1	19 February 1997
				JP	2939341	B2	25 August 1999
				US	5464634	A	07 November 1995
				JP	H09507680	A	05 August 1997
				CA	2177066	A1	02 November 1995
				AU	2361695	A	16 November 1995
US	2012308985	A1	06 December 2012	WO	2013019290	A2	07 February 2013
				WO	2013019290	A9	02 May 2013
US	2005136409	A1	23 June 2005	JP	2005233935	A	02 September 2005
				US	7195919	B2	27 March 2007

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2018/123529

A. 主题的分类

G01N 33/96 (2006.01) i

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)

G01N

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))

CNPAT, CNKI, WPI, EPDOC: 迈瑞生物医疗, 宋瑞霞, 谢键, 红细胞, 模拟, 类似, 质控, 校准, 标准, 卤素, 氯, 溴, 碘, (含氧酸 or 卤酸 or 次卤酸 or 亚卤酸 or 高卤酸 or 次氯酸 or 亚氯酸 or 氯酸 or 高氯酸 or 溴酸 or 碘酸 or 高碘酸) 3d (盐 or 钾 or 钠), red blood cell?, erythrocyte?, RBC?, analog?, simulacrum, mimics, mimetics, simulat+, control?, standard?, calibrat+, halogen 2d acid?, halogen 2d oxysalt?, perchlorate?, chlorate?, hypochlorite?, chlorite?, bromite?, hypobromite?, bromate?, perbromate?, iodate?, periodate?, hypoiodite?, iodite?, NaClO+, KClO+, NaBrO+, KBrO+, NaIO+, KIO+

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
A	CN 105717312 A (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司) 2016年 6月 29日 (2016 - 06 - 29) 权利要求3-10, 说明书第[0010]-[0047]段	1-20
A	CN 107723333 A (迪瑞医疗科技股份有限公司) 2018年 2月 23日 (2018 - 02 - 23) 全文	1-20
A	CN 107076766 A (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司) 2017年 8月 18日 (2017 - 08 - 18) 全文	1-20
A	CN 101668854 A (谢拉分子公司) 2010年 3月 10日 (2010 - 03 - 10) 全文	1-20
A	CN 103454410 A (桂林优利特医疗电子有限公司) 2013年 12月 18日 (2013 - 12 - 18) 全文	1-20

☒ 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

2019年 8月 30日

国际检索报告邮寄日期

2019年 9月 23日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局 (ISA/CN)

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

受权官员

苗君叶

电话号码 86-(10)-53962365

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
A	WO 9528915 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 1995年 11月 2日 (1995 - 11 - 02) 全文	1-20
A	US 2012308985 A1 (STRECK, INC.) 2012年 12月 6日 (2012 - 12 - 06) 全文	1-20
A	US 2005136409 A1 (BECKMAN COULTER, INC.) 2005年 6月 23日 (2005 - 06 - 23) 全文	1-20

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2018/123529

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	105717312	A	2016年 6月 29日	CN 105717312 B	2018年 7月 6日
CN	107723333	A	2018年 2月 23日	无	
CN	107076766	A	2017年 8月 18日	CN 107076766 B	2019年 7月 12日
				WO 2016090579 A1	2016年 6月 16日
CN	101668854	A	2010年 3月 10日	JP 2010535013 A	2010年 11月 18日
				US 2011165610 A1	2011年 7月 7日
				US 2014072976 A1	2014年 3月 13日
				WO 2008113017 A2	2008年 9月 18日
				EP 2129780 A2	2009年 12月 9日
				CA 2680801 A1	2008年 9月 18日
				AU 2008224883 A1	2009年 10月 8日
				KR 20100015578 A	2010年 2月 12日
				IN 200906117 P1	2010年 6月 18日
CN	103454410	A	2013年 12月 18日	CN 103454410 B	2015年 4月 15日
WO	9528915	A1	1995年 11月 2日	EP 0758226 A1	1997年 2月 19日
				JP 2939341 B2	1999年 8月 25日
				US 5464634 A	1995年 11月 7日
				JP H09507680 A	1997年 8月 5日
				CA 2177066 A1	1995年 11月 2日
				AU 2361695 A	1995年 11月 16日
US	2012308985	A1	2012年 12月 6日	WO 2013019290 A2	2013年 2月 7日
				WO 2013019290 A9	2013年 5月 2日
US	2005136409	A1	2005年 6月 23日	JP 2005233935 A	2005年 9月 2日
				US 7195919 B2	2007年 3月 27日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2015年1月)