



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114222907 A

(43) 申请公布日 2022.03.22

(21) 申请号 202080055826.1

(22) 申请日 2020.08.04

(30) 优先权数据

62/883,578 2019.08.06 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.01.30

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/044841 2020.08.04

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2021/026123 EN 2021.02.11

(71) 申请人 贝克曼库尔特有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 卡洛斯·拉米雷斯 阿娜·福尔顿

本塔哈·阿梅德

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

代理人 张福誉 韩晓帆

(51) Int.Cl.

G01N 15/14 (2006.01)

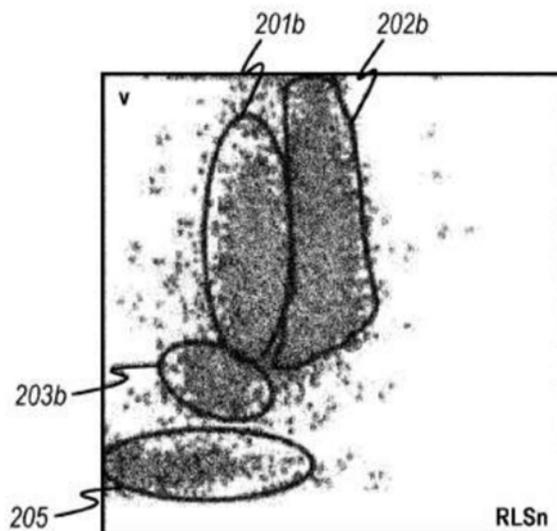
权利要求书3页 说明书17页 附图13页

(54) 发明名称

检测和报道中性粒细胞亚群

(57) 摘要

用于检测和报道中性粒细胞亚群的方法和系统可涉及使用现时参数来阐明一个或更多个其他细胞群参数。用于检测和报道中性粒细胞亚群的方法和系统可涉及构建这样的报道以阐明一个或更多个细胞群参数,否则,特别但非排他性地,其中细胞群参数的报道可不明确或具有比通常更高的混淆可能性。



1. 用于进行早期粒细胞 (EGC) 区分并提供早期粒细胞 (EGC) 区分的结果的方法, 其包括:

a) 进行分析第一体液样品中白细胞的第一测试;

b) 基于以下组中的至少一种来区分所述第一体液样品中的EGC与其他细胞类型: 所述组由粒度、核小叶性和细胞表面结构组成; 以及

c) 产生报道所述第一测试的一个或更多个结果的界面, 其中报道所述第一测试的一个或更多个结果的界面包含:

i) 经标记的中性粒细胞计数; 和

ii) 经标记的EGC计数。

2. 权利要求1所述的方法, 其中:

a) 所述方法包括:

i) 进行分析第二体液样品中白细胞的第二测试; 以及

ii) 产生报道所述第二测试的一个或更多个结果的界面, 其中报道所述第二测试的一个或更多个结果的界面包含:

A) 经标记的中性粒细胞计数; 和

B) 经标记的EGC计数;

b) 所述第一测试以第一模式运行, 并且所述第二测试以第二模式运行; 以及

c) 报道所述第一测试的一个或更多个结果的界面和报道所述第二测试的一个或更多个结果的界面对于其各自的中性粒细胞和EGC计数使用一致的标记。

3. 权利要求2所述的方法, 其中所述第一测试使用第一分析仪进行, 并且所述第二测试使用第二分析仪进行。

4. 权利要求2至3中任一项所述的方法, 其中所述第一测试是五分类, 并且所述第二测试是六分类。

5. 权利要求1至4中任一项所述的方法, 其中:

a) 来自报道所述第一测试的一个或更多个结果的界面的经标记的中性粒细胞计数包括针对多种中性粒细胞亚群的计数;

b) 报道所述第一测试的一个或更多个结果的界面包含针对所述多个中性粒细胞亚群中每个亚群的经标记的计数; 并且

c) 所述多种中性粒细胞亚群包含:

i) EGC; 和

ii) 成熟中性粒细胞。

6. 权利要求5所述的方法, 其中:

a) 成熟中性粒细胞的亚群包含多个子亚群; 并且

b) 所述多个子亚群包含带状、脱粒细胞和老化的中性粒细胞。

7. 权利要求5至6中任一项所述的方法, 其中针对来自所述多个中性粒细胞亚群中每个亚群的经标记的计数为:

i) 显示在报道所述第一测试的一个或更多个结果的界面中接近所述经标记的中性粒细胞计数处; 并且

ii) 相对于所述经标记的中性粒细胞计数在第一级缩进。

8. 权利要求5至7中任一项所述的方法,其中,对于包含子亚群的每个亚群:

a) 报道所述第一测试的一个或多个结果的界面对于每个所述子亚群提供经标记的计数;并且

b) 每个所述子亚群相对于所述经标记的中性粒细胞计数在第二级缩进。

9. 权利要求5至8中任一项所述的方法,其中报道所述第一测试的一个或多个结果的界面包含将所述经标记的中性粒细胞计数与中性粒细胞亚群的经标记的计数相关联的标记。

10. 权利要求5至9中任一项所述的方法,其中所述方法包括:

a) 进行分析第三体液样品中白细胞的第三测试;

b) 将一项或更多项可靠性标准应用于:

i) 在所述第三测试中确定的中性粒细胞计数;

ii) 所述中性粒细胞计数中包含的至少一个中性粒细胞亚群计数;

c) 进行一组确定,其包括:

i) 确定所述中性粒细胞计数中包含的至少一个中性粒细胞亚群计数不满足所述一项或更多项可靠性标准中的至少一项;

ii) 确定对应于所述第三测试的命令不需要中性粒细胞亚群的计数;和

iii) 确定所述中性粒细胞计数满足对其应用的所有可靠性标准;以及

d) 基于所述一组确定,提供包含所述中性粒细胞计数但不包含针对中性粒细胞亚群的计数的报道。

11. 权利要求10所述的方法,其中确定对应于所述第三测试的命令不需要中性粒细胞亚群的计数包括从以下组中的至少一种中取回对应于所述第三测试的命令,所述组由以下组成:

a) 实验室信息系统(LIS);

b) 医疗保健信息系统(HIS);和

c) 电子病历系统(EMR)。

12. 权利要求1至11中任一项所述的方法,其中:

a) 所述第一测试是根据测试命令进行的;

b) 产生报道所述第一测试的一个或多个结果的界面包括:

i) 产生由所述测试命令指定的参数;

ii) 产生现时参数,其:

A) 提供用于由所述测试命令指定之参数的情景;并且

B) 不由所述测试命令指定。

13. 权利要求12所述的方法,其中:

a) 由所述测试命令指定的参数是EGC计数;并且

b) 所述现时参数是成熟中性粒细胞计数。

14. 计算机可读介质,其上存储有用于进行根据权利要求1至13中任一项所述的方法的指令。

15. 包含一个或多个分析仪的系统,所述分析仪配置有存储在计算机可读介质上以进行根据权利要求1至13中任一项所述的方法的指令。

16. 根据权利要求15所述的系统,其中:

a) 所述一个或多个分析仪包含:

i) 适合于将所述第一液体样品传送到流动池中的溶液分配器;

ii) 基本上横向于所述流动池定位的一个或多个能源和相关的传感器;以及

iii) 适合于处理来自与所述一个或多个能源相关的传感器的信号脉冲的信号处理器;

并且

b) 与所述一个或多个能源相关的传感器适合于至少部分基于包含低角度光散射(LALS)测量的光测量产生所述信号脉冲。

检测和报道中性粒细胞亚群

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请的主题与美国专利No.9,658,215和美国专利No.10,222,320相关,其中每个的全部内容均在此通过引用并入。这与2019年8月6日在美国专利局提交的名为“Detecting and Reporting Subpopulations of Neutrophils”的临时专利申请62/883,578相关并要求其权益,该申请的全部内容在此通过引用并入。

背景技术

[0003] 颗粒分析仪用于分析生物细胞样品以便确定样品中包含的一种或更多种类型的细胞的计数和/或分布。颗粒分析仪包括血液分析仪和流式细胞仪。血液分析仪和流式细胞仪通过收集和分析当细胞通过由一个或更多个传感器监控的小孔或测量区域时产生的信号来测量和区分多种类型的血细胞。例如,血液样品流过测量区域,其中一个或更多个能源和相关的传感器被配置为检测与所通过的细胞的多种物理特征相对应的信号。与测量区域中单个细胞的测量相对应的一个或更多个信号被称为细胞事件。随后分析细胞样品的多个细胞的细胞事件数据以确定基于细胞的物理特征而区分的群。

[0004] 物理特性(例如体积、传导率和光散射)的测量已用于对细胞进行分类。例如,来自Beckman Coulter的体积、传导率和散射(Volume, Conductivity and Scatter, VCS)技术在其他应用中用于将白细胞分类为亚组或群。这些物理测量形成了多维空间,其中将共用类似物理特性的细胞组成簇。每种簇对应于特定类型血细胞的群。

[0005] 白细胞(WBC(white blood cell),也称为白细胞)的计数是用于检测病理病症例如多种形式的感染的重要工具。长期以来,WBC 5分类是检测血液病症的宝贵测试。5分类检测和计数通常在外周血中发现的WBC的五种主要亚型,即中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞。然而,在成熟过程的中间阶段可有其他类型的WBC。这些处于成熟过程中间阶段的WBC包括母细胞、变异淋巴细胞和早期颗粒细胞(EGC),其也是血液病症的指标。术语EGC是指主要由早幼粒细胞、髓细胞和晚幼粒细胞构成的未成熟髓样细胞的亚群。处于成熟中间阶段的其他细胞,例如母细胞和带状细胞通常不包括在EGC群中。

[0006] 外周血中存在的EGC的升高可表明骨髓活化增强。例如,EGC的计数可指示为严重的细菌感染形式的脓毒症。一般而言,循环EGC的提高发生在细菌感染期间。EGC的存在表明由于感染或严重炎症性疾病导致的髓样细胞的产生提高。EGC也可在患有白血病、骨髓增生异常综合征和骨髓纤维化的患者中发现。因此,快速且准确的对患者血液样品中的EGC进行计数对于及时治疗急性感染、脓毒症和其他病症是高度期望的。通过鉴定和计数细胞亚群来增强常规的WBC 5分类测试可增强诊断能力。

[0007] 在常规分析方法中,EGC的存在与二维直方图或散点图中的细胞事件群的形状变化相关。基于一个或更多个细胞群的形状,常规的颗粒分析仪能够提醒最终用户关于未成熟或非典型细胞的存在,但可能无法量化这些细胞亚群。

[0008] EGC计数通常通过手动血涂片分析来完成。这个过程是劳动密集型的,并且由于多种因素(例如计数的细胞数少和人的主观性)而高度易于出错。

[0009] EGC计数的另一种常规方法是基于荧光的。将WBC用染色每个细胞的RNA和DNA的聚甲炔染料进行染色。由于EGC中RNA和DNA的含量较高,因此随后可基于较高的荧光来鉴定除成熟粒细胞之外的EGC。然而,基于荧光的技术可能是昂贵的,并且可能不适合于相对低成本的分析仪。另外,管理标记试剂增加了分析仪操作的复杂性,并且根据荧光标记的组成,可引起操作员或环境安全问题。因此,需要能够通过非荧光方法和仪器来确定EGC。

[0010] 更进一步地,公开了仅基于DC来测量未成熟粒细胞的另一种方法。然而,在其中大量中性粒细胞亚群、未成熟粒细胞亚群和带重叠的情况下,这种测量的准确性可受到损害。

[0011] 另一种更近的方法使用光散射测量来鉴定和计数早期粒细胞。

[0012] EGC计数的又一种常规方法涉及使用一种或更多种抗体(例如如CD16抗体)的流式细胞术分析。使用这种方法可根据EGC细胞上缺乏CD16染色来鉴定EGC。然而,该方法涉及使用多种抗体来依次门控不同的细胞类型。因此,使用抗体鉴定EGC的流式细胞术方法可能成本过高,并且由于使用一种或更多种抗体而可导致细胞物理特征的变化。

[0013] 仍然需要有效的方法和系统来鉴定和计数血液样品中的EGC,以区分EGC与其他白细胞亚群,和/或区分EGC与其他中性粒细胞亚群。

发明内容

[0014] 在一些方面中,本公开内容涉及用于检测和/或计数生物样品例如血液样品中的EGC的方法。在一些方面中,本公开内容涉及计数EGC和其他白细胞亚群。在一些方面中,本公开内容涉及计数EGC和其他中性粒细胞亚群。其他中性粒细胞亚群可包含成熟中性粒细胞(“mNE”)和/或带状中性粒细胞(“带状”)。在一些方面中,本公开内容涉及用于以旨在阐明针对不同亚群的所报道量度之间的关系的方式报道白细胞和/或中性粒细胞亚群的方法。

[0015] 根据第一方面,一些实施方案可提供用于进行早期颗粒细胞(early granulated cell,EGC)区分并提供早期颗粒细胞(EGC)区分的结果的方法。在一些实施方案中,这样的方法可包括进行分析第一体液样品中白细胞的第一测试。这样的方法还可包括基于以下组中的至少一种来区分第一体液样品中的EGC与其他细胞类型:所述组由粒度、核小叶性和细胞表面结构组成。这样的方法还可包括产生报道第一测试的一个或更多个结果的界面。在一些实施方案中,这样的界面可包含经标记的中性粒细胞计数和经标记的EGC计数。

[0016] 根据第二方面,在例如在第一方面的情景中描述的一些实施方案中,该方法可包括进行分析第二体液样品中白细胞的第二测试。在一些这样的实施方案中,该方法还可包括产生报道第二测试的一个或更多个结果的界面。在一些这样的实施方案中,报道第二测试的一个或更多个结果的界面可包含经标记的中性粒细胞计数和经标记的EGC计数。在一些这样的实施方案中,第一测试可以以第一模式运行,并且第二测试可以以第二模式运行。在一些这样的实施方案中,报道第一测试的一个或更多个结果的界面和报道第二测试的一个或更多个结果的界面可针对其各自的中性粒细胞和EGC计数使用一致的标记。

[0017] 根据第三方面,在例如在第二方面的情景中描述的一些实施方案中,第一测试可使用第一分析仪进行,并且第二测试可使用第二分析仪进行。

[0018] 根据第四方面,在例如在第二或第三方面中任一项的情景中描述的一些实施方案中,第一测试可以是五分类(five part differential),并且第二测试可以是六分类(six

part differential)。

[0019] 根据第五方面,在例如在第一至第四方面中任一项的情景中描述的一些实施方案中,来自报道第一测试的一个或多个结果的界面的经标记的中性粒细胞计数可包含针对多个中性粒细胞亚群的计数。在一些这样的实施方案中,报道第一测试的一个或多个结果的界面可包含针对多个中性粒细胞亚群的每个亚群的经标记的计数。在一些这样的实施方案中,多个中性粒细胞亚群可包含EGC和成熟中性粒细胞。

[0020] 根据第六方面,在例如在第五方面的情景中描述的一些实施方案中,成熟中性粒细胞的亚群可包含多个子亚群(sub-subpopulation)。在一些这样的实施方案中,多个子亚群可包含带状、脱颗粒细胞和老化的中性粒细胞。

[0021] 根据第七方面,在例如在第五或第六方面中任一项的情景中描述的一些实施方案中,针对来自多个中性粒细胞亚群的每个亚群的经标记的计数可显示在报道第一测试的一个或多个结果的界面中接近经标记的中性粒细胞计数处,并且可相对于经标记的中性粒细胞计数在第一级缩进。

[0022] 根据第八方面,在例如在第五至第七方面中任一项的情景中描述的一些实施方案中,对于包含子亚群的每个亚群,报道第一测试的一个或多个结果的界面可针对每个子亚群提供经标记的计数,并且每个子亚群可相对于经标记的中性粒细胞计数在第二级缩进。

[0023] 根据第九方面,在例如在第五至第八方面中任一项的情景中描述的一些实施方案中,报道第一测试的一个或多个结果的界面可包含将经标记的中性粒细胞计数与中性粒细胞亚群的经标记的计数相关联的标记。

[0024] 根据第十方面,在例如在第五至第九方面中任一项的情景中描述的一些实施方案中,该方法可包括进行分析第三体液样品中白细胞的第三测试。在一些这样的实施方案中,该方法还可包括将一项或更多项可靠性标准应用于在第三测试中确定的中性粒细胞计数,以及中性粒细胞计数中包含的至少一个中性粒细胞亚群计数。在一些这样的实施方案中,该方法还可包括进行一组确定,其包括:i) 确定中性粒细胞计数中包含的至少一个中性粒细胞亚群计数不满足一项或更多项可靠性标准中的至少一项;ii) 确定对应于第三测试的命令不需要中性粒细胞亚群的计数;和iii) 确定中性粒细胞计数满足对其应用的所有可靠性标准。在一些这样的实施方案中,该方法还可包括,基于这一组确定,提供包含中性粒细胞计数但不包含针对中性粒细胞亚群的计数的报道。

[0025] 根据第十一方面,在例如在第十方面的情景中描述的一些实施方案中,确定对应于第三测试的命令不需要中性粒细胞亚群的计数可包括从以下组中的至少一种中取回对应于第三测试的命令:该组由实验室信息系统(laboratory information system,LIS)、医疗保健信息系统(healthcare information system,HIS)和电子病历(electronic medical record,EMR)组成。

[0026] 根据第十二方面,在例如在第一至第十一方面的任一项的情景中描述的一些实施方案中,第一测试可根据测试命令来进行。在一些这样的实施方案中,产生报道第一测试的一个或多个结果的界面可包括产生由测试命令指定的参数。在一些这样的实施方案中,产生报道第一测试的一个或多个结果的界面还可包括产生现时 nonce 参数,该现时参数针对由测试命令指定的参数提供情景并且不由测试命令指定。

[0027] 根据第十三方面,在例如在第十二方面的情景中描述的一些实施方案中,由测试命令指定的参数可以是EGC计数,并且现时参数可以是成熟中性粒细胞计数。

[0028] 根据第十四方面,一些实施方案可提供计算机可读介质,其上存储有用于进行如在第一至第十三方面中任一项的情景中描述的方法的指令。

[0029] 根据第十五方面,一些实施方案可提供包含一个或更多个分析仪的系统,该分析仪配置有以进行如在第一至第十三方面中任一项的情景中描述的方法的指令。

[0030] 根据第十六方面,在例如在第十五方面的情景中描述的一些实施方案中,一个或更多个分析仪可包含适合于将第一体液样品传送到流动池中的溶液分配器,基本上横向于流动池定位的一个或更多个能源和相关的传感器,以及适合于处理来自与一个或更多个能源相关的所述传感器的信号脉冲的信号处理器。在一些这样的实施方案中,与所述一个或更多个能源相关的所述传感器可适合于至少部分基于包含低角度光散射(low angle light scatter,LALS)测量的光测量产生信号脉冲。

[0031] 本公开内容的其他方面在随后的附图和详细描述中进行了描述,或者从随后的附图和详细描述中对于本领域技术人员将是显而易见的。

附图说明

[0032] 以下参照附图对本公开内容的另外的特征和优点以及其多个方面的结构和操作进行详细描述。需要注意的是,本公开内容不限于本文中所述的特定实施方案。本文中提出这样的实施方案仅出于说明性目的。基于本文所包含的教导,另外的实施方案对于相关领域的技术人员将是显而易见的。

[0033] 图1是根据本公开内容的方面的示例性系统。

[0034] 图2A和2B示出了基于体积和光散射的WBC差异分析的示例性散点图。图2A示出了正常样品。图2B示出了具有EGC的样品。

[0035] 图3A和3B示出了中性粒细胞和EGC群的重叠。图3A示出了基于体积和旋转的中角度光散射的示例性散点图。图3B示出了基于体积和传导率的示例性散点图。

[0036] 图4A、4B和4C示出了根据本公开内容的方面使用LALS来检测EGC群。图4A示出了具有传导率和LALS的示例性散点图。图4B示出了具有传导率和包括LALS在内的导出测量的示例性散点图。图4Cf示出了具有包括LALS在内的第一导出测量和包括不透明度(Opa city, OP)在内的第二导出测量的示例性散点图。

[0037] 图5示出了DC v MALS散点图中的示例性细胞群。

[0038] 图6示出了在具有根据本公开内容的方面导出测量的散点图中与图5相同的细胞样品。

[0039] 图7示出了根据本公开内容的方面检测和计数EGC的示例性方法。

[0040] 图8示出了根据本公开内容的方面鉴定EGC群的示例性方法。

[0041] 图9示出了根据本公开的方面的示例性细胞事件分析仪和示例性对应系统。

[0042] 图10示出了根据本公开内容的方面来自细胞事件分析的结果的示例性显示。

[0043] 图11是根据本公开内容的方面用于报道实验室分析的简化流程图。

[0044] 图12是用于进行早期颗粒细胞(EGC)区分并提供早期颗粒细胞(EGC)区分的结果的简化流程图

[0045] 图13是用于通过省略不满足可靠性标准的计数来动态确定包含在报道界面中的信息的简化流程图。

具体实施方式

[0046] 本公开内容的特征和优点将从下面结合附图阐述的详细描述中变得更加明显。在附图中,相似的附图标记通常表示相同的、功能类似的和/或结构类似的要素。一般而言,其中要素首次出现的附图由相应附图标记中最左侧的数字指示。

[0047] 如上所述,WBC通常被分类为5种亚群。典型的亚群是中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜碱性粒细胞和嗜酸性粒细胞。每个亚群具有不同的形态特征,并且WBC的一个或更多个亚群的变化可有助于诊断或排除某些医学病症。然而,使用自动血液分析仪有效区分这些亚群已被证明具有挑战性。尽管亚群具有不同的形态,但其也具有许多相似性。当尝试区分5种主要亚群的第二级亚群时,这些相似性甚至更难克服。例如,在5分类中,所报道的中性粒细胞计数可包含EGC和带。在一些情况下,EGC与其他中性粒细胞亚群之间的区别可临床上显著,因此仍然需要区分这些中性粒细胞亚群,并提高用于自动区分这些中性粒细胞亚群的已知方法的效率和准确性。

[0048] 区分EGC的最初尝试也被报道不一致困扰。不同种类的分析仪或者甚至使用同一分析仪的不同分析模式可以以不同的方式报道WBC亚群。例如,带或EGC可包含在中性粒细胞计数中或从中性粒细胞计数中排除。在一些情况下,EGC可包含在中性粒细胞计数中并且也被单独报道。在另一些情况下,EGC可从中性粒细胞计数中排除并且不被单独报道,或者可从中性粒细胞计数中排除并且被单独报道。这使实验室人员或临床医师有责任记住包含在所报道的中性粒细胞计数中或从所报道的中性粒细胞计数中排除的内容,以及在什么条件下。考虑到不同测试结果的优势以及不同分析模式和/或不同分析仪的潜在使用,实验室人员或临床医师知道如何在不同条件下阅读中性粒细胞报道的要求是显著低效的并且是潜在临床混淆的根源。此外,中性粒细胞通常报道为白细胞的百分比。如果在无具体情景(context)的情况下单独报道EGC,则所报道的值是EGC与白细胞相比的百分比还是EGC与中性粒细胞相比的百分比可能是不清楚的。

[0049] 本文中公开的方法和系统能够通过分析由颗粒分析仪产生的细胞事件数据来鉴定和计数细胞样品中的EGC。本公开内容提供了优于现有技术的方法,因为本说明书不需要任何特别或昂贵的染料、染色剂或抗体来将EGC与通常重叠的中性粒细胞群分离。此外,本文中所述的报道技术可阐明中性粒细胞亚群的关系,特别是在不同亚群可另外地在不同情景中以不同方式存在的系统中。

[0050] 本文中使用的术语“参数”和“测量”通常可互换使用。在本公开内容的一些方面中,激光发射从颗粒即细胞反射或偏转的能量束,并且从原始光束以特定角度反射或偏转的该能量或该能量的一部分由一个或更多个检测器作为参数测量。因此,一般认为能量是被测量的参数。某些参数不是直接测量的,而是计算出来的。作为具体实例,不透明度(OP)和RMALS是从针对不透明度参数测量的DC和RF以及针对RMALS参数的MALS和DC来计算的参数。

[0051] 在本公开内容的一些方面中,低角度光散射(LALS)测量用于自动检测和计数血液样品中的EGC群。根据本公开内容的一些方面的EGC的计数不需要在颗粒检测器中重复测试

样品。经计数的EGC信息可作为白细胞的5分类测试的一部分并入,或者可单独存在。

[0052] 其中可实施本公开内容的示范性环境包括颗粒分析仪,例如流式细胞仪和血液分析仪。例如,DxH™800和DxH™900血液分析仪使用专有Coulter体积、传导率和散射(VCS)技术的变体来询问颗粒分析仪测量区域内的细胞。VCS使用至少三个彼此协同工作的独立能源来询问细胞:用于测量体积的低频直流(direct current,DC)电源、用于测量传导率(OP)的高频电源、以及用于测量散射的一个或更多个激光源。使用Coulter电阻抗原理进行体积测量,以物理测量在等张稀释剂中置换的整个细胞的体积。这种方法准确地确定所有细胞类型的尺寸,无论其在光路中的取向如何。射频(RF)范围中的交流电使细胞膜的双极脂质层短路,使能量穿透细胞。这种能源用于收集关于细胞尺寸和内部结构的信息,包括化学组成和核体积。一个或更多个激光能源和多角度光散射传感器或检测器提供关于细胞内部结构、粒度和表面形态的信息。光散射测量可包括例如在距轴20至65度的范围测量的上中角度光散射(upper medium angle light scatter,UMALS),例如在距轴10至20度的范围测量的下中角度光散射(lower medium angle light scatter,LMALS)。UMALS和LMALS的组合通常称为MALS,但UMALS和LMALS使用相邻的光检测器构成单独的光散射测量。

[0053] 另外,VCS仪器使用体积的高精度DC测量,以获得针对来自传导率和散射的细胞尺寸进行调整的其他测量。其全部内容在此通过引用并入的美国专利No.5,616,501(授予Rodriguez et al)包括对颗粒分析仪和VCS技术使用的详细描述。虽然商业DxH™血液分析仪具有所有VCS技术能力,但VCS的多个方面可独立使用,或以子组合形式使用,或与其他技术(例如荧光标记或细胞成像(有或无染色))组合使用,以鉴定和/或计数细胞或细胞亚群。应当注意,本公开内容中的教导不限于使用VCS技术或其变体的装置。

[0054] 光散射测量可包括LALS测量和/或轴向光损失测量(ALL或AL2)。例如在距轴0至10度的范围测量LALS.ALL作为例如在距轴0至1.0度处沿轴的光损失来测量。然而,本领域技术人员理解,对应于UMALS、LMALS、LALS和ALL的示范性光散射角度是彼此相关的,并且可由于因素例如颗粒检测器的配置、颗粒检测器的个体特征以及与细胞样品混合的试剂或其他材料而改变。

[0055] 图1示出了根据本公开内容的方面的颗粒分析仪100。图1是示例性的,并且颗粒分析仪可包含与图1所示的相比更多或更少的模块、不同的模块和不同的设计。如所示的,颗粒分析仪100包含颗粒检测器124和分析仪122。颗粒检测器124包含颗粒样品分配器102和鞘液分配器104。样品分配器102包含根据所期望的分析或测试的要求制备的颗粒样品。例如,可用稀释剂将血液样品稀释至预定程度的细胞浓度。稀释剂的类型和稀释程度根据所运行的测试而不同:白细胞(WBC)分析与红细胞(red blood cell,RBC)相比所需的稀释度更低,因为与RBC相比,样品中WBC的数目低。鞘液分配器104保持鞘液,例如盐水。鞘液能够使颗粒检测器中的颗粒样品平滑流动。来自颗粒样品分配器102的颗粒样品和来自鞘液分配器104的鞘液以预定的恒定速率注射。溶液分配器106将颗粒样品和鞘液传送到流动池108中。流动池108通常是设计用于单个颗粒通过的小直径的管。溶液分配器106中的溶液通过流体动力学聚焦以恒定速率注射到流动池108中。流体动力学聚焦以恒定速率并且在通常使颗粒在流动池108内以恒定间隔出现在单个行中的足够的压力下注射溶液。应当注意,一些颗粒检测器可具有无流动池的测量区域。

[0056] 传感装置110定位在颗粒检测器124内,使得可采用一个或更多个传感介质来传感

流过测量区域120的颗粒。能源112和相关的传感器114基本上横向于流动池108定位在传感装置110内。能源112和传感器114采用一个或更多个电或光传感介质来检测测量区域120中的颗粒。例如，一组能源112和相关的传感器114可采用光测量来测量通过测量区域120的细胞的光散射和光损失特征。光散射测量可包括UMALS、LMALS和LALS。光损失作为轴向光损失(ALL或AL2)，即例如在距轴0至1.0度处沿轴的光损失来测量。其他组的能源112和传感器114可采用DC测量来测量细胞的体积(V)，并采用RF测量来测量细胞的传导率(OP)特征。能源112和传感器114还可包含其他介质，例如如声介质，其中超声用于检测测量区域120中细胞的多种特征。

[0057] 传感器114与信号处理器118耦接。传感器114将检测到的电或光测量转换为在信号处理器118中处理的对应的电信号脉冲。对于通过测量区域120的每个颗粒，例如在信号处理器118中收集对应于测量序列的电信号脉冲。从这些电信号脉冲形成信号，该信号示出了当一个颗粒流过测量区域时针对一个测量参数捕获的测量值。信号处理器118的输入可以是模拟或数字信号。一个或更多个模数转换器(analog to digital converter, ADC)可用于在信号处理器118中的处理之前、期间或之后将模拟信号转换为数字。信号覆盖的持续时间可在颗粒进入测量区域开始至其从测量区域退出。在本说明书的一些实施方案中，信号处理器118可对每个信号进行另外的处理，以导出描述所检测到的颗粒的一个或更多个测量参数。

[0058] 测量区域120内的颗粒的检测被称为事件或细胞事件。信号处理器118分析对应于流过测量区域120的每个检测到的颗粒的导出信号以确定对应事件。随后将检测到的事件传递至分析仪122。分析仪122与信号处理器118耦接以接收事件数据。分析仪122可位于与颗粒探测器耦接的计算机中。应当注意，分析仪122可位于包含颗粒探测器124的颗粒分析仪100主板上，或者通过通信基础设施单独地与颗粒分析仪100耦接。

[0059] 信号产生和事件检测可针对每个有源电或光测量来单独进行。分析仪122可接收对应于每个有源测量的事件数据。随后分析仪122可分析所接收的事件数据以确定一个或更多个计数、细胞群或者对应于细胞或细胞群的其他特征。在本说明书的一些实施方案中，分析仪122可引起所接收事件的散点图、直方图或其他图形和/或文本显示的显示。散点图、直方图和其他图形表示可以是多维的。确定一个或更多个细胞计数、细胞群或者细胞或细胞群的其他特征可涉及分析单个细胞事件信号(例如，LALS)、分析细胞事件信号的组合(例如，LALS和MALS或LALS、MALS和OP)、或基于其他计数或特征来计算计数或特征。例如，如果中性粒细胞仅被亚分类为EGC和mNE(在这种情况下，“mNE”可能包含带状、脱颗粒中性粒细胞和其他杂项细胞)，则分析仪可计算中性粒细胞和EGC并将mNE计算为中性粒细胞减去EGC。类似地，分析可计算中性粒细胞和mNE并将EGC报道为中性粒细胞减去mNE，或计算mNE和EGC并将它们相加以报道总中性粒细胞。如果从细胞事件信号中获得另外的中性粒细胞亚群或亚类(例如，带状、脱颗粒中性粒细胞、其他老化的中性粒细胞等)，则可使用类似的数学来推断计数。

[0060] “敏感性”和“特异性”是二元分类测试的性能的统计量度。敏感性衡量正确鉴定的实际阳性的比例。特异性衡量正确鉴定的阴性的比例。100%的特异性意指该测试可识别所有实际的阴性。100%的敏感性意指该测试可识别所有实际的阳性。因此，与高特异性测试相反，高敏感性测试中的阴性结果用于排除疾病。高特异性测试中的阳性结果可证实疾病

的存在。然而,仅特异性并不足以表明测试识别阳性病例的准确性。还需要了解敏感性。对于任何测试,通常在这些测量之间进行折衷。例如,在对患有某种病症的人进行检测的诊断分析中,该分析可被设置为忽略被正确鉴定为患有该病症的病人的一定百分比(低特异性),以降低遗漏被正确鉴定为无该病症的健康人的百分比的风险(高灵敏度)。这种折衷可使用接受者操作特征(receiver operating characteristic,ROC)曲线以图形方式表示。

[0061] 测量系统的“准确性”是量的测量值与其实际(真实)值的接近程度。

[0062] 在一些方面中,如公开的用于计数EGC的方法具有至少约80%的准确性,并且更特别地至少约85%的准确性。在一些优选实施方案中,如公开的用于计数EGC的方法具有至少约90%的准确性。

[0063] 在一些方面中,如公开的用于计数EGC的方法具有至少约85%的敏感性,更特别地至少约90%的敏感性,并且甚至更特别地至少约95%的敏感性。在一些方面中,如公开的用于计数EGC的方法具有至少约80%的特异性,并且更特别地至少约85%的特异性。在一些优选的方面中,如公开的用于计数EGC的方法具有至少约90%的特异性。

[0064] 使用LALS来鉴定和计数EGC

[0065] EGC是成熟中性粒细胞的前体。可根据其独特的粒度、核小叶性和/或细胞表面结构的方面将EGC与其他细胞类型(特别包括中性粒细胞)区分开来。这些独特的方面可被测量并用作鉴定EGC群的基础。在一些方面中,LALS可用于辨别细胞粒度、核小叶性和/或细胞表面结构的程度。与成熟WBC相比,LALS参数对EGC的粒度、小叶性和/或表面特征的细微变化高度敏感。然而,还应理解,LALS可与针对EGC计数的特异性和敏感性的其他参数组合。更特别地,EGC可使用非荧光方法和使用LALS的仪器以及来自前向光散射、侧向散射、轴向光损失、DC、RF和不透明度中的至少一种测量来测量。更进一步地,前向散射光选自UMALS、LMALS、MALS。当然,荧光方法可单独使用或与其他方法组合使用,以计数EGC。然而,如上所述,非荧光方法在成本和/或易用性方面可存在某些优势。

[0066] 图2a和2b示出了来自正常血液样品(图2a)和包含EGC的血液样品(图2b)的WBC差异散点图。群202a和202b分别代表正常样品和包含EGC的样品的中性粒细胞群。当与群202a的形状相比时,群202b的形状是沿体积轴伸长的。群201a和201b代表单核细胞,群203a和203b代表淋巴细胞,群204代表嗜酸性粒细胞,以及群205代表未裂解的RBC。许多常规方法基于中性粒细胞群的形状的伸长来鉴定EGC的存在,例如图2b中所示。例如,美国专利No.5,125,737(授予Rodriguez et al)的图19和20示出了分别映射DC vs.OP和DC vs.RMALS的散点图中的中性粒细胞群的形状沿体积或DC轴的伸长。RMALS是通常计算为 $\log(\text{UMALS} + \text{LMALS}) / \text{DC}$ 的旋转的中角度光散射。

[0067] 图3a和3b分别示出了另一个血液样品的DC vs.RMALS和DC vs.OP的散点图。图3a和3b中示出的血液样品包含62.25%分段中性粒细胞、12.75%带状、3%晚幼粒细胞和0.75%髓细胞的手动参考。在两个散点图中,如簇302和303中所示,EGC群不能与中性粒细胞群分开鉴定。因此,尽管中性粒细胞群的形状的伸长可用作关于血液样品中EGC的存在的指标,但如常规使用的基于DC、RMALS和OP的散点图未单独鉴定EGC和/或计数EGC。

[0068] 图4a是根据本说明书的一个实施方案的映射OP vs.LALS的散点图的说明。簇402在OP vs.LALS的散点图中示出了与图3a和3b中所示相同的细胞事件。群402的形状沿LALS轴的伸长使得能够标记存在EGC的样品。

[0069] 本说明书的一些实施方案使用LALS来鉴定EGC群。下面描述的是其中LALS与其他参数(例如MALS、ALL、OP和/或DC)组合以鉴定和计数EGC群的一些实施方案。LALS可与其他参数和/或包括LALS导数在内的导出参数组合以鉴定EGC群体。应当理解,可根据参数的多种其他组合或导出参数来使用LALS,以基于本公开内容中的教导来鉴定和计数EGC。如前所述,本说明书不仅仅限于使用LALS来鉴定和计数EGC,因为LALS参数只是检测EGC的粒度、小叶性和/或细胞表面特征的一种方式。这些细胞特征使本发明人能够从它们紧密重叠的中性粒细胞群中辨别EGC。

[0070] 将LALS与MALS组合以鉴定和计数EGC

[0071] 根据本说明书的另一个实施方案,LALS可与MALS和DC和RF中的一种或更多种一起使用以鉴定和计数EGC。根据一个实施方案,LALS与MALS和DC一起使用。在另一个实施方案中,OP可用于更清楚地区分EGC群与其他细胞群例如中性粒细胞。又一个实施方案使用LALS、MALS、OP和DC来构建导出参数以区分EGC。

[0072] 应当理解,导数函数是增强密切相关群体中细微差异的已知方法。导数函数和伴随变量或另外的参数的选择完全在本领域技术人员的技能水平之内。在图中,OP、RLS、F1、F2、P1和P2是导数函数。

[0073] 在一个实施方案中,基于EGC和中性粒细胞的独特的核小叶性和表面结构特性,将LALS和DC并入导出参数以区分EGC与中性粒细胞。与中性粒细胞相比,EGC的LALS较低。另外,基于EGC通常在尺寸上比中性粒细胞更大的特征,在导出测量中使用DC测量以提高EGC与中性粒细胞之间的分离。例如,美国专利No.5,125,737的图19示出了EGC的体积比中性粒细胞更大。

[0074] 在另一个实施方案中,导出测量可并入OP(其是RF和DC的函数)以提高EGC与中性粒细胞的分离。与中性粒细胞相比,EGC的OP更低。

[0075] 在某些实施方案中,导出参数也可并入MALS。MALS通过感知中角度光散射的细微结构差异,有助于提高EGC与中性粒细胞之间的分离。然而,如图3a所示,仅MALS无法实现EGC与中性粒细胞群之间的明显分离。

[0076] 图4b和4c示出了当并入导出参数以创建散点图时图4a的细胞样品。图4b示出了中性粒细胞群402b沿P1轴的伸长。图4c示出了当引入导出测量时中性粒细胞群402c相对于P2轴的扩散。如图4c所示,将示例性实施方案应用于血液样品的最终结果可产生其中除了中性粒细胞外,EGC可被清楚地识别的散点图。在图4c中,EGC群406与中性粒细胞群404和未定义的群408充分不同。在所示的散点图中,EGC群406占WBC群的8.8%,并且未定义的群408占WBC群的7.8%。EGC群似乎几乎完全由晚幼粒细胞、髓细胞和早幼粒细胞构成。在一些情况下,EGC群中可包含一小部分处于其向早幼粒细胞阶段过渡的髓母细胞。未定义的群似乎由脱颗粒的中性粒细胞、老化的中性粒细胞和带构成。

[0077] 在得出公开的实施方案的导出参数时,应当理解适当的系数值可以是在细胞样品的群之间产生基本上最佳分离的系数的组合。系数值的选择可动态计算。例如,根据一个实施方案,可重复地重新校准系数值,直到满足关于在散点图上映射的细胞群之间的分离的预定阈值组。

[0078] 将LALS与ALL组合以鉴定EGC

[0079] 在本说明书的另一个实施方案中,LALS可与ALL测量一起考虑。细胞ALL的大小代

表其表面特性和吸光度特征。其全部内容在此通过引用并入的美国专利No.7,008,792提供了对ALL测量的描述,作为计数NRBC的方法的一部分。

[0080] 发明人观察到,对于EGC和中性粒细胞,LALS和ALL参数沿相反方向移动。因此,根据本说明书的一个实施方案,创建了基于LALS和ALL,特别是LALS与ALL之间的差异的导出测量。认为LALS与ALL之间的差异有助于提高EGC与中性粒细胞群之间的分离。

[0081] 发明人还观察到,一般而言,与中性粒细胞相比,EGC表现出更高的DC和更低的OP参数。因此,根据本说明书的一个实施方案,认为基于OP与DC之间差异的导出测量提高了EGC群与中性粒细胞群的分离。

[0082] 可对初始导出参数进行另外的平移、旋转和缩放,以实现EGC和中性粒细胞群的优化定位。

[0083] 还可拉伸和缩放中间导出参数以占据期望的显示区域。拉伸和缩放有助于提高群体之间的分离,使得可更准确地完成自动门控和计数。

[0084] 导出参数可用于产生直方图、散点图和/或其他图形显示,其中EGC和中性粒细胞群被充分分离,使得可实现对各个群的自动计数。

[0085] 图5示出了在常规DC vs.MALS散点图中包含EGC的中性粒细胞群502。如示出的,常规DC vs.MALS散点图未充分地将EGC群与中性粒细胞群分离。

[0086] 图6示出了在根据本说明书的一个实施方案绘制导出参数的散点图中与图5中所示相同的细胞样品。在图6中,EGC群604与中性粒细胞群602明显地分离。

[0087] 使用LALS鉴定和计数EGC的方法

[0088] 图7示出了根据本公开内容的方面鉴定和计数血液样品中EGC的方法700。方法700可在例如图1所示的颗粒检测器和分析仪中实施。

[0089] 在步骤702中,制备血液样品用于分析。例如,并且在不失一般性的情况下,在血液分析中,可在裂解全血样品以除去红细胞之后,针对白细胞进行5分类测试。制备步骤还可包括向样品和任选的鞘液中添加稀释剂以促进样品流过测量区域。随后使用例如流体动力学聚焦的过程将制备的颗粒样品以基本恒定的速率注射到包含测量区域的路径中,以确保有足够的压力以使单个行中的颗粒移动通过路径。

[0090] 在步骤704中,血液样品的细胞在颗粒分析仪的测量区域中进行测量。在稀释剂和任选地在鞘液中的细胞一个接一个地通过测量区域。在细胞处于测量区域中的时间间隔期间,多个能源和传感器中的一个或多个可运行以使细胞经受询问并收集由相应询问产生的信号。如上所述,根据本说明书的一个实施方案,多个能源和对应的传感器运行以收集用于LALS测量的测量信号以及DC、OP、MALS和ALL参数中的一个或多个。

[0091] 在步骤706中,产生对应于所收集的测量信号的细胞事件数据。例如,细胞的细胞事件数据可包含表示在该细胞通过测量区域的间隔期间该细胞的所有参数的数据。产生细胞事件数据可包括产生用于在多个传感器处检测到的光学、RF和其他信号的电信号。

[0092] 在步骤708中,例如通过分析仪组件存取细胞事件数据。根据一个实施方案,步骤708至716的一些或全部处理可在颗粒检测器中测量细胞时以实时或接近实时的方式进行。根据另一个实施方案,步骤708至716的处理可在已由颗粒检测器先前产生的存储的测量数据上进行。

[0093] 在步骤710中,根据本说明书的一个实施方案,从细胞事件数据中区分EGC群。经区

分的EGC群在下文相对于图8进一步描述。

[0094] 在步骤712中,可报道经区分的EGC群。根据一个实施方案,报道包括以一个或多个直方图、散点图或其他图形和/或文本显示形式显示和/或打印输出一个或多个细胞群。根据另一个实施方案,报道包括将多个细胞群数据写入计算机可读存储介质,以便存储的信息可用于以后的检索和分析。

[0095] 在步骤714中,计数EGC。在将EGC群与包括中性粒细胞群在内的其余细胞群分离之后,可对EGC进行计数。EGC的计数可基于计数落在区域内的单个细胞事件来门控区域内的细胞事件和/或估计区域内的细胞事件。

[0096] 在步骤716中,报道经计数的EGC。经计数的EGC可报道为绝对计数和/或总白细胞计数的百分比。经计数的EGC也可报道为任何其他细胞群,例如如中性粒细胞的百分比和/或分数。如在报道经区分的EGC群的情况下,报道可包括显示、打印输出和/或存储到计算机可读介质。计算机可读介质可以是非暂时的。

[0097] 图8示出了将EGC群与细胞样品的其他细胞群区分开来的方法800。

[0098] 在步骤802中,创建了包含LALS的第一导出测量。根据一个实施方案,第一导出参数包含LALS测量和DC测量。

[0099] 在步骤804中,创建了包含OP的第二导出测量。根据一个实施方案,第二导出参数包含OP测量和MALS测量。

[0100] 在步骤806中,进行细胞事件的聚类。根据一个实施方案,创建了具有将第一测量作为一个轴并将第二测量作为另一个轴的散点图。可手动和/或自动进行细胞群的聚类。聚类可包括迭代地校准系数和/或测量项,直到所选择的细胞群被至少预定阈值距离所分离。聚类步骤还可包括门控一个或多个细胞群。

[0101] 在步骤808中,基于在前一步骤中进行的聚类来鉴定EGC群。EGC簇与中性粒细胞簇可基于如图4c所示的第一和第二导出参数进行区分。

[0102] 在其他方面中,第一和第二导出参数可在步骤802和804中创建。第一导出测量因此可包含LALS和MALS参数。第二导出参数可包含DC和OP参数。根据该实施方案,步骤806中的聚类可包括创建具有基于第一和第二导出参数的轴的散点图。

[0103] 其他实例

[0104] 未成熟粒细胞的鉴定和/或计数可基于LALS和两个或多个参数。二维或更多维的散点图、直方图和其他图形类型可用于EGC群的区分和计数。例如,一个实施方案可包括基于导出参数和另一个物理或导出测量来产生三维表面图像,并且可基于相应细胞事件在三维表面中的位置来鉴定和计数EGC群。

[0105] 如图9所示,系统900包含与分析仪122耦接的颗粒检测器124。分析仪122还可与显示器920和存储器921耦接。存储器921可包含非暂时和/或有形的计算机可读介质。颗粒检测器124使用一个或多个测量参数检测颗粒事件,并且包含处理检测到的测量参数以构建每个颗粒事件的表示该颗粒在测量区域中持续时间的信号的信号处理器118。如上所述,信号处理器118产生对应于测量区域内的各细胞的测量的细胞事件。信号处理器118可例如通过降低接收信号中的噪声来进行接收信号的处理以优化细胞事件的产生。用于汇编与测量区域中颗粒的持续时间相对应的信号以及确定与该信号相对应的参数的指令可以以任何合适的编程语言来实施,编程语言包括硬件描述语言(hardware description

language, HDL)、汇编、C和C++,并且可包括硬件、固件或软件组件中的一个或多个。

[0106] 如相对于上述图1所述的,分析仪122可位于颗粒分析仪100内,或者位于通过通信介质(例如但不限于有线或无线连接)直接地或通过一个或多个中间装置单独与颗粒检测器124耦接的位置。如果使用一个或多个中间装置,则每个装置可物理地与颗粒检测器124耦接或者可通过无线通信介质(例如WIFI、蜂窝电话传输(cellular telephony transmission)等)与颗粒检测器124耦接。分析仪122接收与由颗粒检测器124检测到的每个颗粒相对应的细胞事件数据。该事件数据尤其可包括LALS、OP、DC和MALS的参数。

[0107] 分析仪122包含以下组件:其包括处理器902、记忆装置903、存储装置904、输入装置905、输出装置906、EGC确定器模块907和通信基础设施908。处理器902可以是任何微处理器或其他能够执行处理指令的处理器。记忆装置903可包含随机存取存储器。存储装置904包含计算机可读持久性存储介质,例如闪存或硬盘。处理器902执行用于从颗粒分析仪接收事件数据、处理所接收的数据并输出经处理的结果数据的指令。记忆装置903和存储装置904提供处理器902的任何暂时或永久记忆和存储需求。通信基础设施908将分析仪122的组件彼此互连,并且可包含以下通信介质:其包括但不限于外围组件互连(peripheral component interconnect, PCI)总线、扩展工业标准架构(Extended Industry Standard Architecture, EISA)总线、以太网和/或WIFI。输入装置905可包含通过通信基础设施908与颗粒分析仪100的连接以及从颗粒分析仪100接收包括事件数据在内的数据的能力。

[0108] EGC确定器模块907包含处理颗粒检测器124的细胞事件数据以鉴定和计数血液样品中的EGC群的功能。例如,EGC确定器模块907可包含指令或计算机程序以实施方法700的步骤708至716。EGC确定器模块907可由数据存取模块942、EGC区分器模块944和EGC报道器模块946构成。数据存取模块942可存取从颗粒检测器接收的细胞事件数据。存取数据可涉及访问存储装置以取回先前存储的细胞事件数据或从颗粒检测器接收细胞事件数据(实时或延迟)。EGC区分器模块944可包含鉴定和计数EGC群的功能,例如,如上相对于方法700的步骤710和714所述的。EGC报道器模块可包含报道EGC信息的功能,例如,如上相对于方法700的步骤712和716所述的。

[0109] EGC确定器模块907可以以任何合适的编程语言实施,编程语言包括硬件描述语言(HDL)、汇编、C和C++,并且可包括硬件、固件或软件组件中的一个或多个。实施EGC确定器模块907的指令和/或计算机程序可例如存储在计算机可读存储介质904中。

[0110] 输出模块906包含以适合于应用的方式处理包括EGC确定器模块907中确定的EGC群信息在内的细胞群信息的功能。在一个实施方案中,输出模块906可根据预配置的图形设置产生一个或多个图形,以显示在包含EGC确定器模块907的处理模块中确定的经区分的细胞群。

[0111] 输出模块906使用通信基础设施908与显示器920和/或存储装置921耦接。来自输出模块906的结果数据被传输到显示器920以由操作员显示和分析。例如,显示器920可以以直方图、散点图或其他形式的图形和/或文本显示的形式示出结果数据。在另一个实施方案中,可将结果数据存储在外存储装置921中以用于后续处理和分析。

[0112] 实施例

[0113] 提供以下非限制性实施例仅用于说明目的,以便于更完整地理解目前考虑的一些代表性实施方案。这些实施例不应被解释为限制本说明书中描述的任何实施方案,包括与

用于鉴定和/或计数早期粒细胞的方法、系统和/或设备有关的那些。

[0114] 实施例1

[0115] 在七个不同位点收集的1536个独特样品组上,EGC计数相较于参考400细胞手动区分的评价在下表1中示出。相关系数r通过将EGC%与早幼粒细胞%、髓细胞%和晚幼粒细胞%的总和进行比较来确定。用于计算ROC曲线下面积的阳性标准是早幼粒细胞%、髓细胞%和晚幼粒细胞%的总和大于或等于1%。

[0116] 在上述实施例中,1536个样品中的502个被经培训的血液学技术人员评分为包含EGC。随后使用具有本说明书的EGC检测方案的DxH800仪器来分析相同的样品。相关系数(r)被确定为由仪器评分为包含与经培训的技术人员评分的样品数目相关的EGC的样品数目的函数。

[0117] 表1

手动参考区分的EGC的统计分析						
[0118]	样品	符合阳性标准的样品	相关系数(r)	ROC曲线下面积		敏感性和特异性的标准
				敏感性	特异性	
	1536	502	0.87	0.89	84.5	80.8
						>0.52

[0119] 敏感性是真阳性EGC与真阳性EGC和假阴性计数的比率。另一方面,特异性是真阴性EGC与真阴性EGC和假阳性计数的比率。ROC曲线下面积(接受者操作曲线)是与EGC计数方法的敏感性和特异性组合的分析方法的准确性的量度。列出的敏感性和特异性的标准反映了用敏感性换取特异性的值的滑动标度,反之亦然。因此,例如,1.0的标准将是以降低敏感性为代价提高特异性的情况。特定应用的最佳值可由本领域普通技术人员通过常规努力来确定。

[0120] 对使用流式细胞术CD16标志物作为参考在两个不同位点收集的315个样品组的类似评价提供了表2中示出的结果。CD16是与中性粒细胞相关但与EGC无关的标志物。因此,经标记的CD16抗体可用于门控中性粒细胞并将其与EGC群分离,EGC群通常出现在与中性粒细胞群紧密重叠的散点图区域中。较不成熟的细胞与成熟细胞相比具有更少的光散射。因此,使用CD16抗体和光散射的组合可对EGC群进行门控。使用该方法筛选了315个样品,并且其中164个样品被鉴定为包含EGC。当CD16门控分析方法与本说明书的分析方法进行比较时,本说明书提供了表2中示出的结果。

[0121] 表2

流式细胞术CD16的EGC的统计分析						
[0122]	符合阳性标准的样品	相关系数 (r)	ROC 曲线下面积	敏感性	特异性	敏感性和特异性的标准
	315	0.90	0.90	82.3	80.8	>0.50

[0123] 因此,本方法还证明了具有较高或较低水平的未成熟细胞(例如母细胞或幼年中性粒细胞(即,带状))的存在对准确性无显著影响。

[0124] 使用常规分析仪,中性粒细胞亚群可以以需要实验室人员和/或临床医师的大量知识来正确解释的不一致或混乱的格式被报道。例如,在一些商业系统中,分析仪可以以两种或更多种模式运行。其中一种模式可以是不表征中性粒细胞亚群的5分类。在这样的5分类模式中,报道了包含EGC的中性粒细胞计数。同一分析仪还可运行亚分类模式(有时在商业上称为6分类),其可报道不包含EGC的中性粒细胞计数,并单独报道EGC。在这种情况下,同一分析仪产生在不同的报道中对“中性粒细胞”进行不同的计数的报道,其有时包含EGC并且有时不包含EGC。这种类型的系统可具有单独的模式,因为其使用不同的试剂或荧光标记,并且如果未特别地命令EGC计数,用户可能不希望为另外的试剂或提高的样品处理时间来计数EGC而产生另外的成本。在这方面,光散射或VCS样的方法可以是优选的,因为不需要另外的试剂来计数EGC,并且鉴定EGC的另外的计算处理时间是微不足道的。

[0125] 图10呈现了根据本公开内容的方面用于报道中性粒细胞亚群的示例性方法的结果。不考虑其中使用的细胞事件来鉴定EGC,用户可读显示器1000可呈现白细胞群或中性粒细胞群或二者的视觉指示1010,其提供针对报道值的情景并可给出实验室人员和/或临床医师对EGC群的相对尺寸的直观感受。在一些方面中,用户可读显示器可包含在不同分析仪和/或模式中一致地使用术语“中性粒细胞”的报道。例如,提供5分类的特定商业家族内的分析仪可使用与同一商业家族内提供所谓的6分类的另一个分析仪相同含义的“中性粒细胞”。例如,所有中性粒细胞计数可包含EGC。在另一些方面中,所有中性粒细胞计数都可不包含EGC。在一些方面中,报道还可区分中性粒细胞与中性粒细胞亚群。例如,如图10所示,中性粒细胞值可与经缩进的1030的子值一起呈现以强调子值滚动到中性粒细胞值中。或者,中性粒细胞亚群值可在缩进或不缩进的情况下与显示为相对于亚群缩进或未缩进的最终总和的总中性粒细胞计数一起呈现。在一些方面中,包含任何经计数的中性粒细胞亚群的中性粒细胞计数可通过文字或符号(例如,总数、总和、=,等)标记为亚群计数的集合。可独立于确定计数的过程来选择这些显示。例如,即使中性粒细胞计数是基于对细胞事件的直接观察,并且通过计算计数了一个或更多个亚群(例如,通过排除其他直接观察到的计数来推断亚群的计数),但中性粒细胞计数可作为总和(例如,总数、总和、=,等)呈现。在另一些方面中,显示格式可对应于确定计数的过程,与通过计算得出的计数相比,直接从细胞事件分析得出的计数具有不同的命令或不同的缩进或标记。

[0126] 为了帮助维持清晰,可报道不一定具有已知临床效用的一个或更多个参数。例如,EGC可与mNE组合报道,其中mNE包含数个中性粒细胞亚群,例如带状、成熟中性粒细胞、老化

的中性粒细胞、脱颗粒的细胞等。这个特定的mNE亚群可无特别的临床意义,但可报道以提供针对EGC的情景。同样地,报道可包含在第一缩进级1020处中性粒细胞(NE)的计数,在第二缩进级1030处EGC的计数,以及在第二缩进级1030处mNE的计数。在快速浏览中,合理地明显的是,任何被计数为中性粒细胞的细胞均被归类为EGC或mNE,并且EGC和mNE的总和是所有NE的总和。实际上,mNE可计算为 $NE - EGC = mNE$ 。如果期望,还可对mNE进行进一步的可能对带状、成熟NE、脱颗粒细胞、老化NE等中的一种或更多种使用第三缩进级的亚分类。当然,特定的标记并不重要。如本文中所用的,mNE通常指包括带在内的“成熟”中性粒细胞,其有时被称为“幼年”中性粒细胞(以将其与也称为未成熟粒细胞的EGC区分开来)。但可使用任何期望的标记,例如非EGC、miscNE、其他等,并且在本公开内容之外,mNE可用于指不同的NE亚群或不同的NE亚群组合。相反,使用结构化报道来阐明所报道的内容并维持5分类和所谓的6分类之间的一致性的概念是使用这些说明性标记来举例说明的。

[0127] 维持NE的总结报道还简化了本地决策规则的实施。大多数商业分析仪具有预设的标志和/或警报,表明分析中的某些内容对由分析仪确定的细胞或细胞群特征中的一个或多个提出了问题。这些可包括系统中气泡或碎片的已知指示,例如,可能但不太可能的计数,或不可能彼此组合的不同细胞群的相对计数或参数。类似地,特定实验室或机构(可包含在不同地点或不同设施中的实验室网络)可建立定义分析仪在特定情况下应采取的行动的本地决策规则。例如,超出特定阈值的细胞或细胞群参数可被标记以用于实验室技术人员在将它们转发给研究人员或临床医师之前进行检查。作为另一个实例,特定阈值内的细胞或细胞群参数可在实验室技术人员未检查的情况下被释放给研究人员或临床医师。当使用相同的参数名称来指代两个或多个不同的测量时,例如取决于使用的分析仪或分析仪运行的模式,使用NE来指代所有中性粒细胞和仅指成熟中性粒细胞这两种情况皆可时,这些本地决策规则是复杂的。这些复杂性在建立本地决策规则时提高了逻辑或软件错误的可能性,因为规则必须考虑多种可能性(例如,分析仪ID、分析仪模式和参数值)而不是单一可能性(例如,参数值)。如果决策规则未能考虑所有变量,则可能未标记潜在的错误结果以用于检查,例如,如果总中性粒细胞计数似乎是正常的,则仅仅是因为EGC被排除在“总”计数之外,或者正确的结果可被不必要地标记,例如,如果总中性粒细胞计数似乎异常高,则是因为包含了EGC。不必要的标记会消耗实验室技术人员的宝贵时间和精力,提高常规血液分析的成本,并且可延迟处理经不必要地标记以用于检查的样品。

[0128] 类似地,将NE报道与亚群报道分离可降低技术人员检查的标记。中性粒细胞亚群是处于不同发育阶段的细胞,并且其共用许多特征。因此,对中性粒细胞进行亚分类对于任何目前可用的细胞分析技术均是具有挑战性的。当操作员内部或操作员之间对中性粒细胞进行亚分类时,即使手动涂片也不具有理想的再现性。同样地,与一般的中性粒细胞计数相比,应预期中性粒细胞的亚分类将产生更多标记用于实验室技术人员检查。通过一致地分离这两个参数,如果特定样品不需要中性粒细胞的亚分类,则分析仪本身可能通过抑制的不需要的结果来绕过用于人检查的标志,否则这些结果被标记用于检查。分析仪可通过将样品ID与输入分析仪的测试命令进行比较,或者,如果提供这样的连接,则与实验室信息系统(LIS)、医疗保健信息系统(HIS)或电子病历(EMR)中的测试命令进行比较来完成这些,以查看是否请求了中性粒细胞亚分类。类似地,如果需要对特定结果进行人检查,则一致性的报道可有助于故障检修,例如,可能消除像确定分析仪运行的模式或使用的报道格式一样

的步骤。以这种方式,如果不太复杂的中性粒细胞计数满足任何预设和本地可靠性标准,则该计数可被释放或自动释放(例如,在无人用户干预的情况下由分析仪和/或相关的计算装置释放),甚至如果其中确定中性粒细胞亚群有一些复杂性,则假定特定样品不需要亚群表征。

[0129] 如上所述并在图11中示出,本公开内容的一个方面是使用现时参数来阐明和/或完成实验室分析报道的报道。在这方面,用于报道分析结果的方法1100可包括分析包含细胞的样品。在本公开内容中,血液已被用作一致的实例,然而,可商购的血液分析仪通常能够处理可包含细胞的其他非血液体液,包括但不限于滑液、脑脊液、胸膜液等,以及取自其他种类样品(例如痰、伤口引流、脓液等)的细胞混悬剂。类似地,本文中所述的过程和系统也可在其他种类的分析仪中找到应用,例如尿分析机和细胞成像装置,无论它们是否旨在或能够分析血液样品。用于报道分析结果的方法1100可包括1120即确定一个或更多个细胞群参数。用于报道分析结果的方法1120可包括1130即产生现时参数。现时参数可以是除了提供用于经确定的细胞群参数的一个或更多个情景或支持信息之外无特别意义的参数。例如,mNE在许多情景中可无临床意义,并且当要求EGC计数时可不被要求(单独或作为常规区分的一部分)。然而,mNE可常规地与EGC一起作为现时参数报道,以帮助理解所报道的EGC和NE参数之间关系的情景。在这方面,并且如上所述,可例如通过从NE中减去EGC来计算(或确定)mNE。用于报道分析结果的方法1100可包括1140即报道具有现时参数的一个或更多个经确定的细胞群参数。如上所述,经确定的细胞群参数和现时参数的视觉表示、放置和标记还可指示细胞群参数和其他报道值之间的关系。

[0130] 如上所述,本公开内容的另一方面的特征在于使用阐明EGC区分结果的界面。在这方面,并且如图12所示,可提供用于进行早期颗粒细胞(EGC)区分和提供早期颗粒细胞(EGC)区分结果的方法1200。这样的方法可包括1201即进行分析第一体液样品中白细胞的第一测试。这样的方法还可包括1202即基于组中的至少一种来区分第一体液样品中的EGC与其他细胞类型。该组可由粒度、核小叶性和细胞表面结构组成。在一些这样的方法中,在进行第一测试的1201之后,该方法可包括1203即产生报道第一测试的一个或更多个结果的界面。在一些这样的方法中,该界面可包含经标记的中性粒细胞计数和经标记的EGC计数。

[0131] 在一些方面中,例如如在图12的情景中描述的方法中产生的界面。可提供另外的信息。例如,在一些实施方案中,来自这样的界面的经标记的中性粒细胞计数可包含多个中性粒细胞亚群(例如EGC和成熟中性粒细胞)的计数,并且界面可包含这些亚群中每个的经标记的计数。另外,在一些方面中,包括产生这样的界面的方法1300还可包括1301即进行分析另一(例如,第三)体液样品中白细胞的另一测试(例如,第三测试,与原始测试和任何中间测试进行区分),以及1302即将一项或更多项可靠性标准应用于在第三测试中确定的中性粒细胞计数和中性粒细胞计数中包含的至少一个中性粒细胞亚群计数。在一些实施方案中,这样的方法1300还可包括1303即进行一组确定。这些确定可包括确定1304即中性粒细胞计数中包含的至少一个中性粒细胞亚群计数不满足一项或更多项可靠性标准中的至少一项,确定1305即对应于第三测试的命令不需要中性粒细胞亚群的计数,并且确定1306即中性粒细胞计数满足对其应用的所有可靠性标准。随后,一旦做出这些确定1303,在一些实施方案中,如图13中所示的方法可基于这一组确定继续提供包含中性粒细胞计数但不包含中性粒细胞亚群的计数的报道1307。

[0132] 收集的样品的上述数据分析表明,与样品的手动区分检查相比,本说明书具有高水平的相关性、敏感性和特异性。新的并且非显而易见的报道过程还使数据分析更易于人用户理解和解释。

[0133] 在本公开内容中,公开了可改善自动血细胞计数的诊断价值的方法和系统。特别地,本公开内容的方面能够自动鉴定和计数血细胞样品中的EGC,这对于检测和治疗多种感染病症可以是重要的。所公开的方法和系统产生了在成本效益和效率方面超过当前方法和系统的显著改善,并且可引起在颗粒分析仪数据的分析方面的显著改善。

[0134] 出于说明和解释的目的已经呈现了前述描述。其不旨在穷尽本发明或将本发明限制为所公开的精确形式,并且根据上述教导,其他修改和变化是可以的。该描述旨在解释本公开内容的原理及其实际应用,从而使本领域的其他技术人员能够在多个实施方案和多个修改中最好地利用本公开内容,以适合预期的特定用途。其旨在将所附权利要求书解释为包括说明书的其他替代实施方案,除非受现有技术限制。

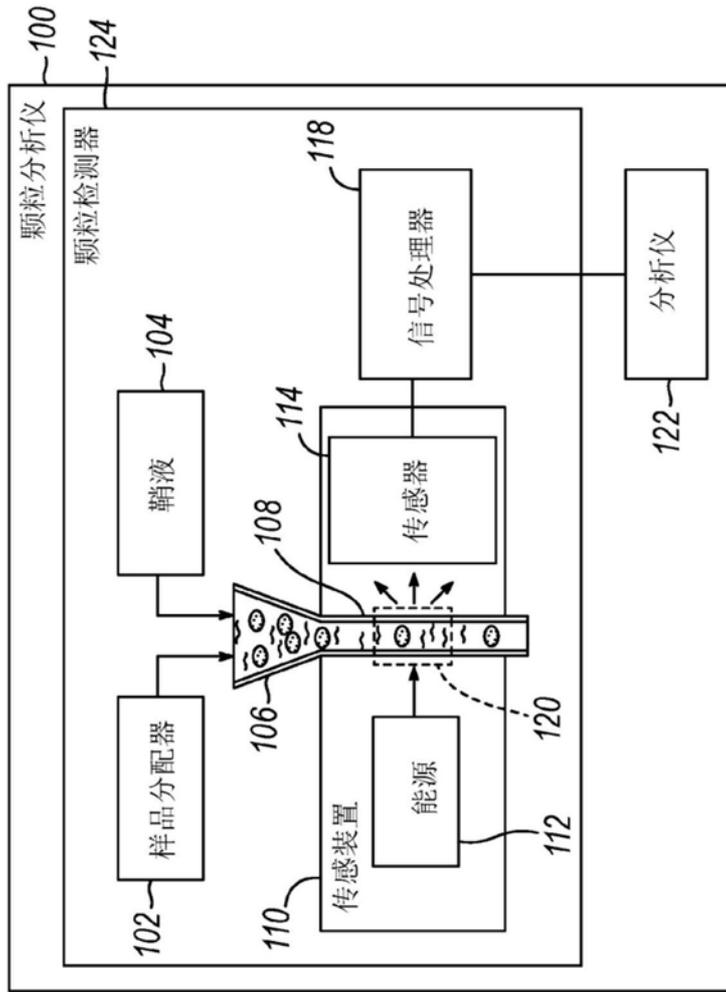


图1

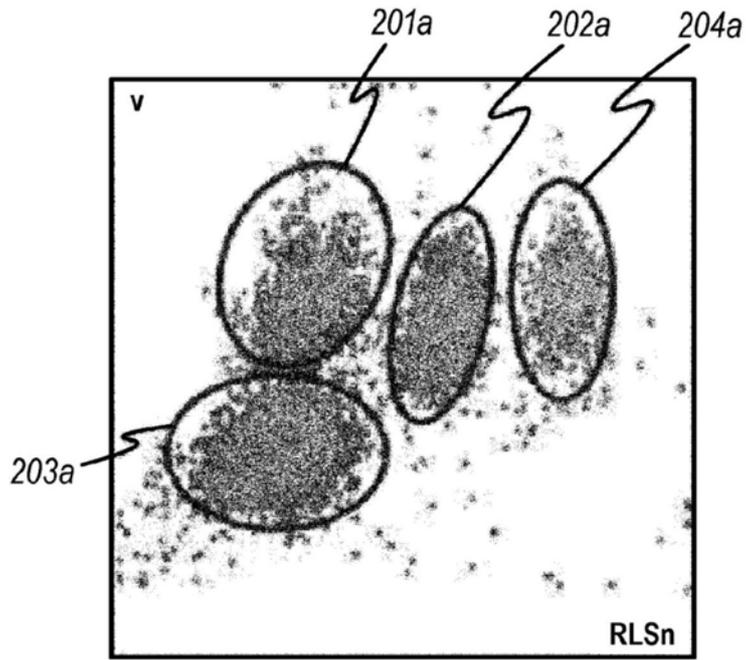


图2A

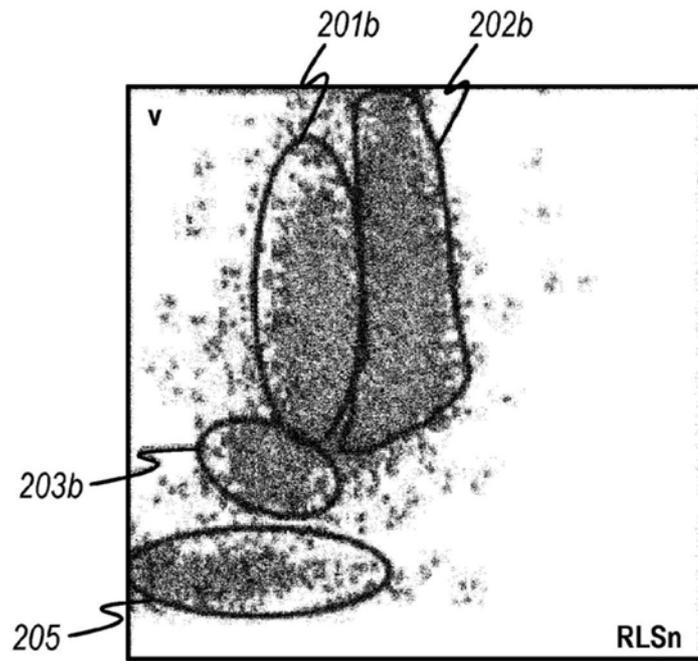


图2B

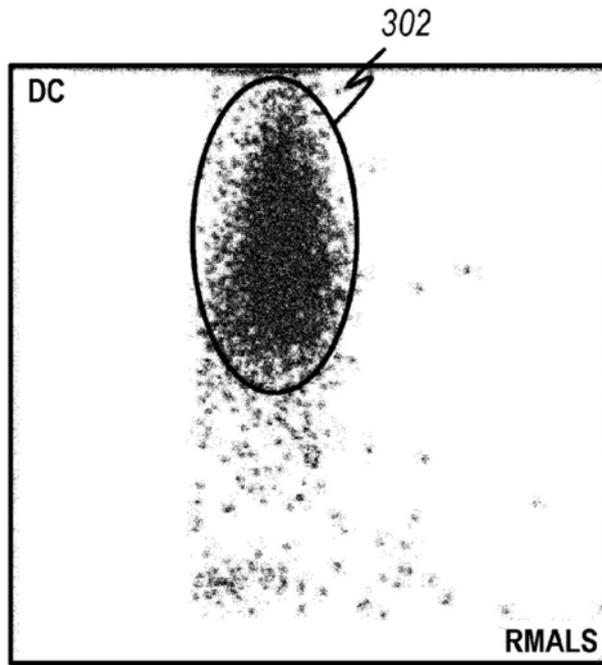


图3A

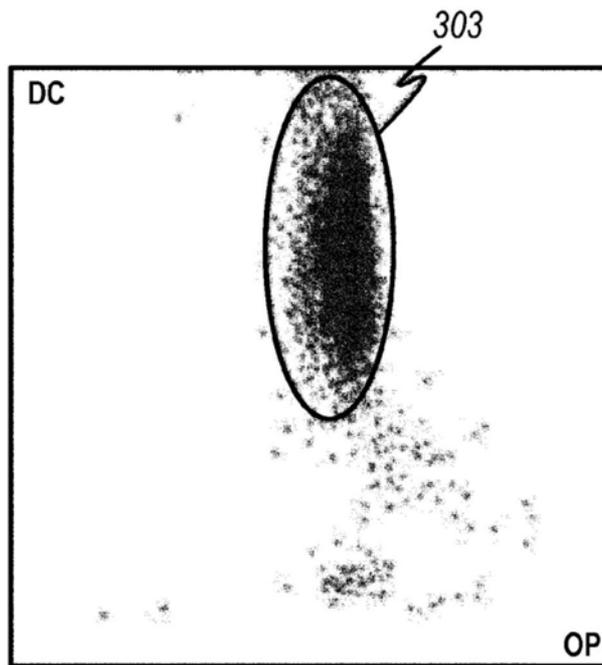


图3B

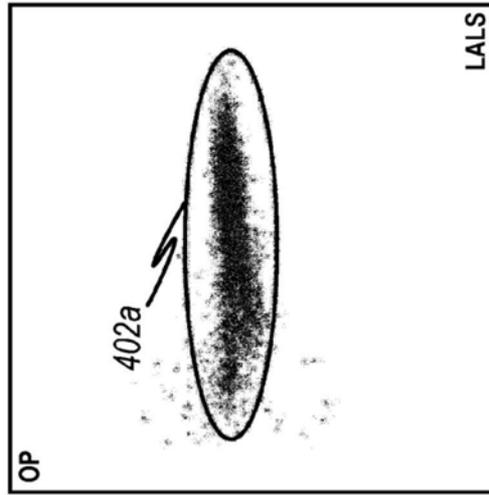


图4A

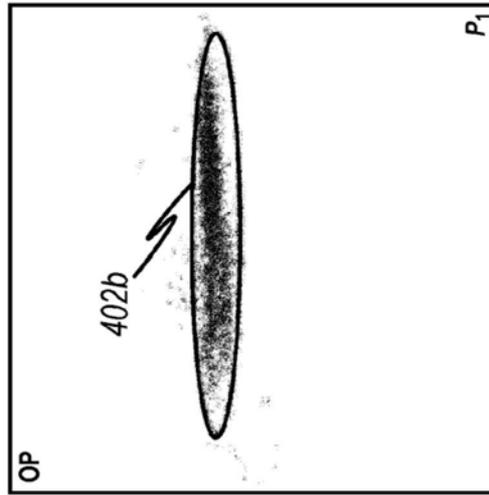


图4B

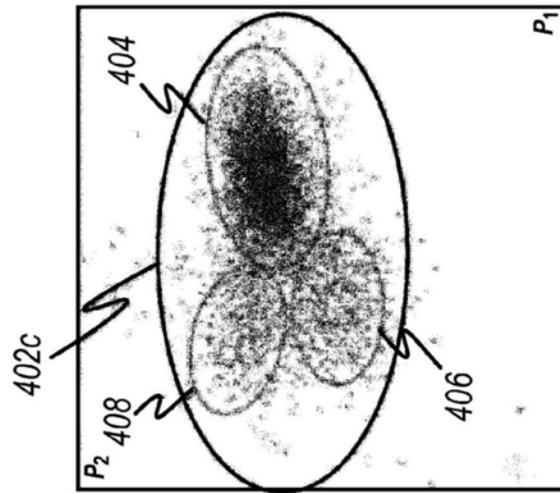


图4C

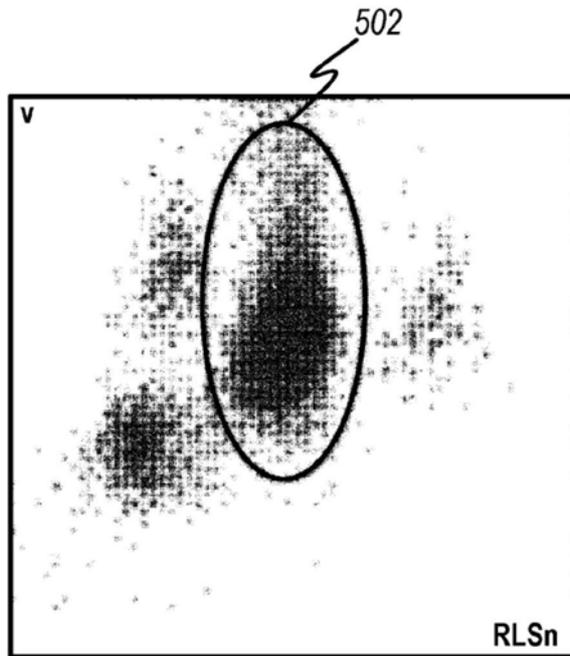


图5

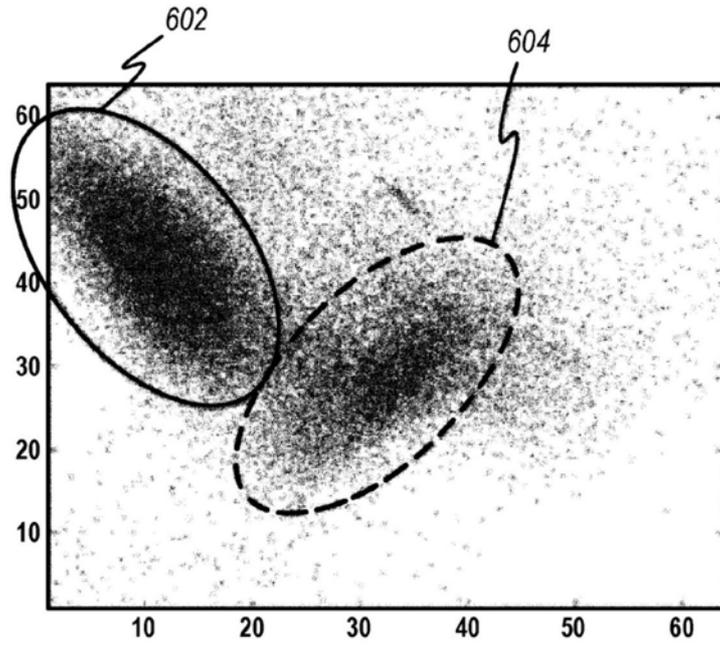


图6

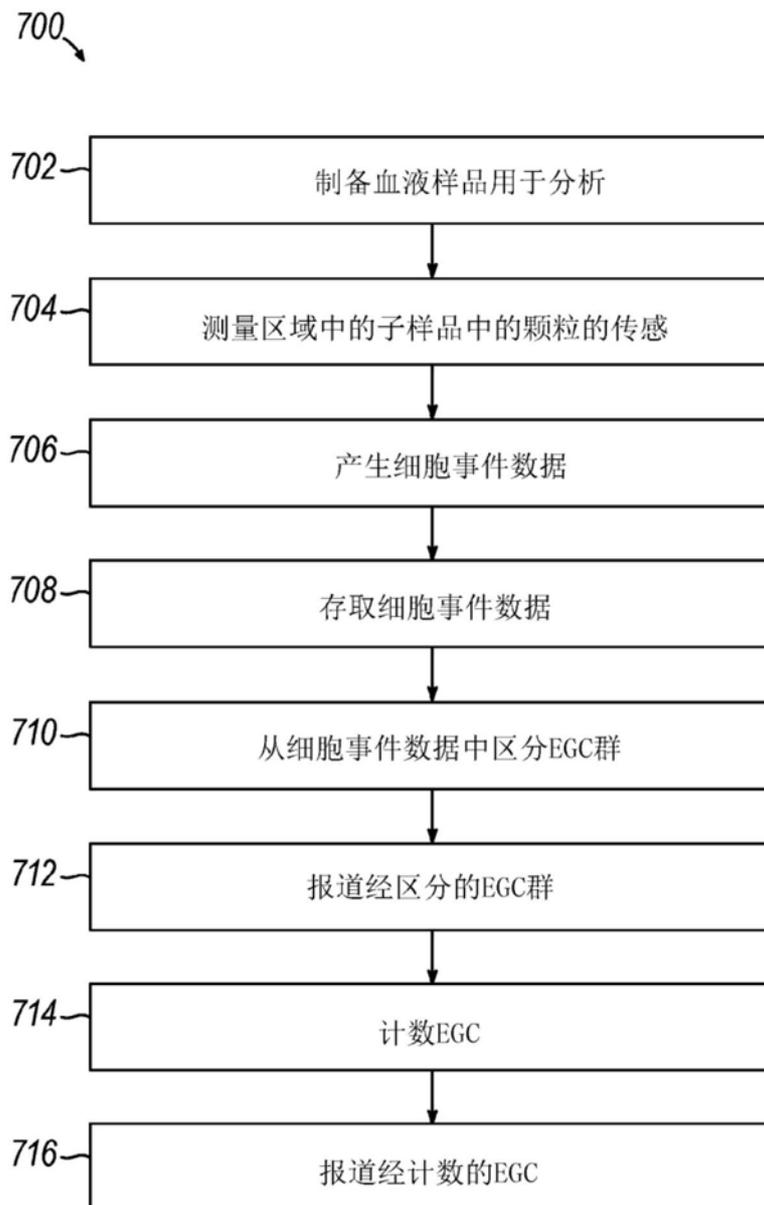


图7

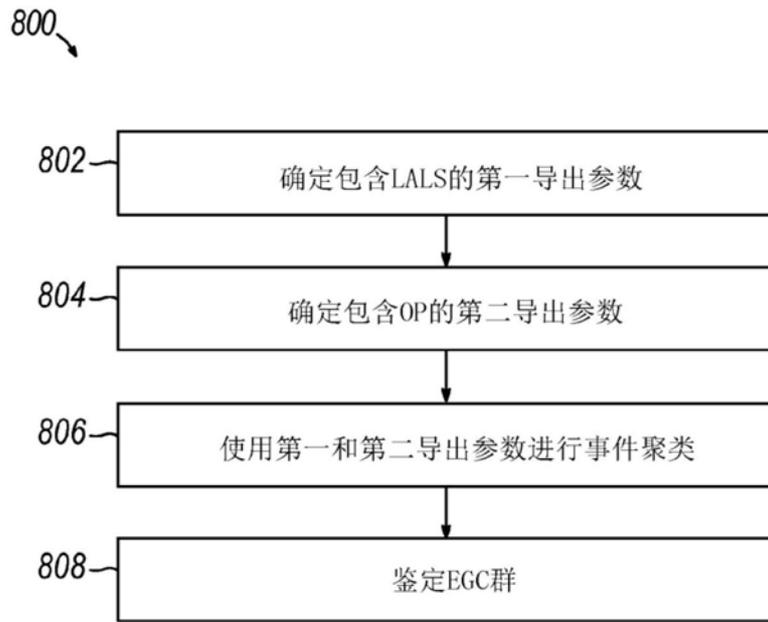


图8

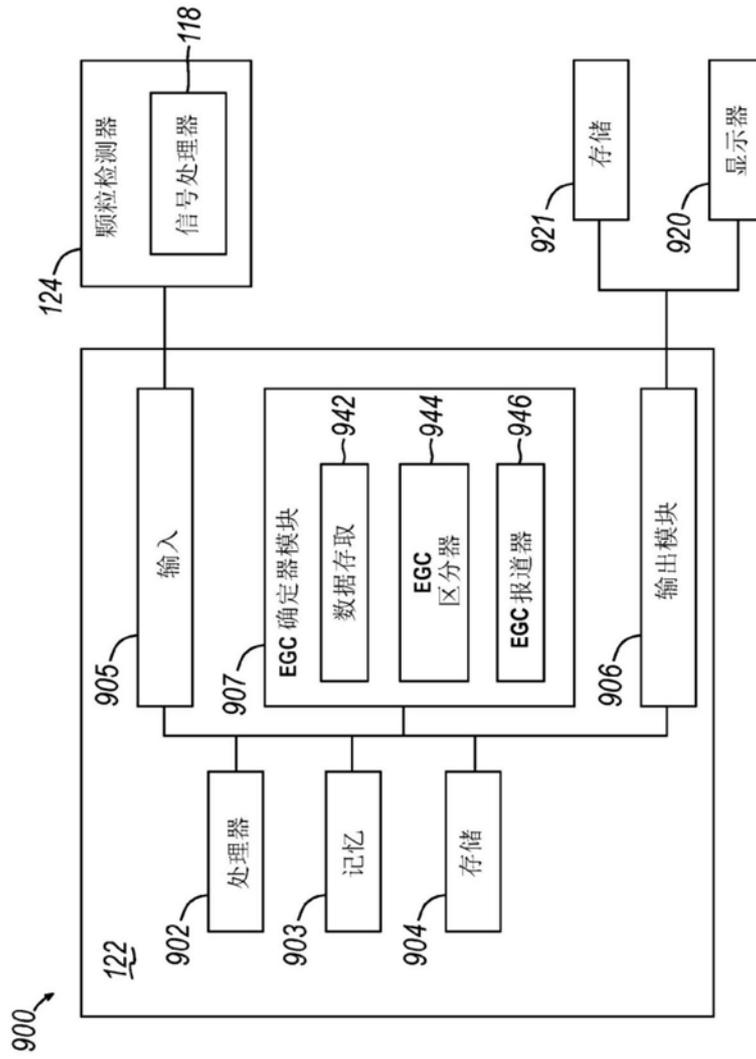


图9

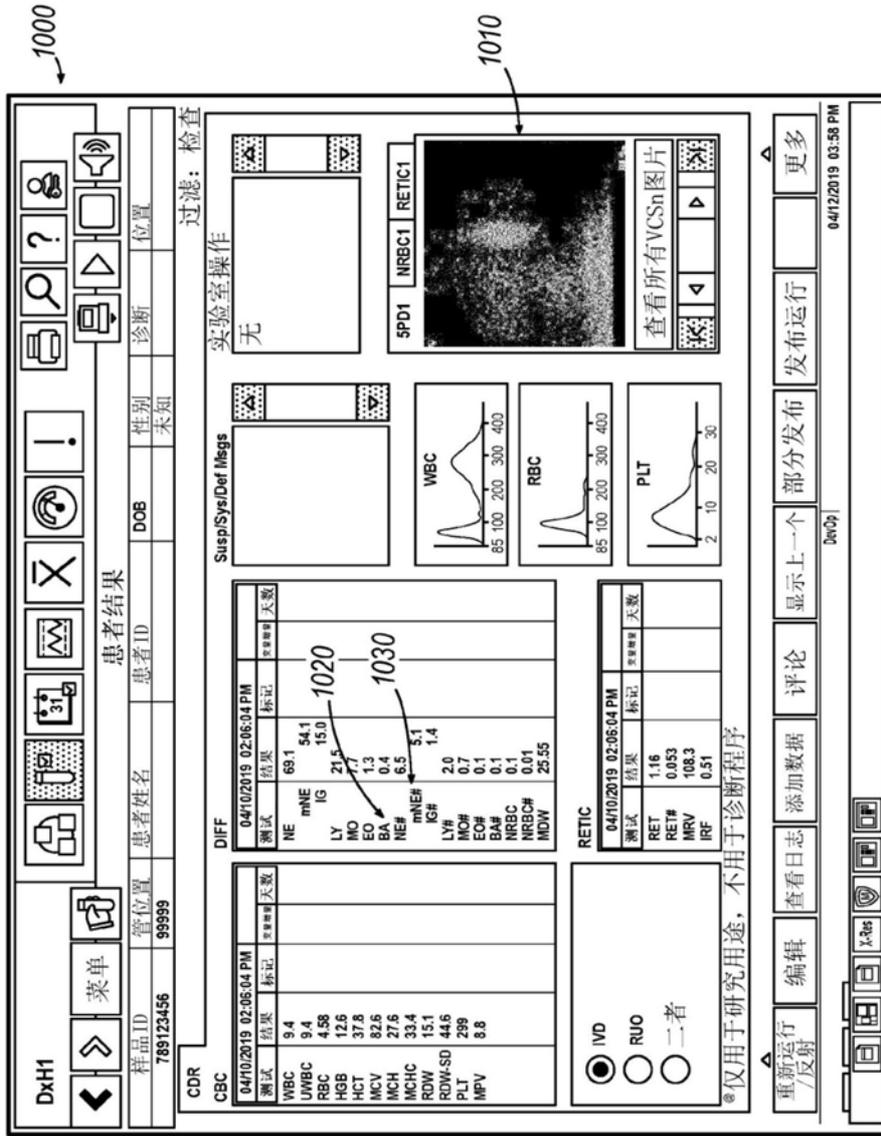


图10

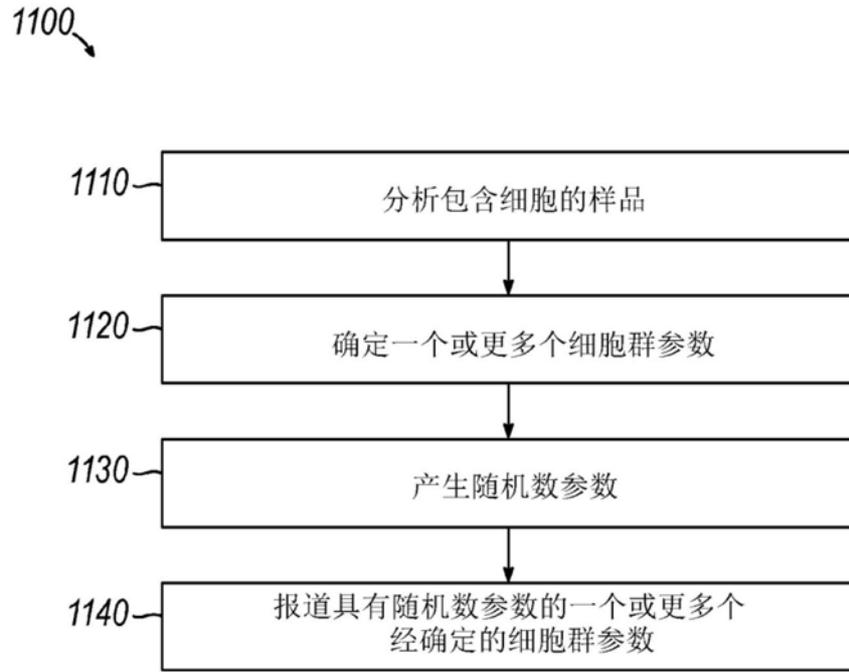


图11

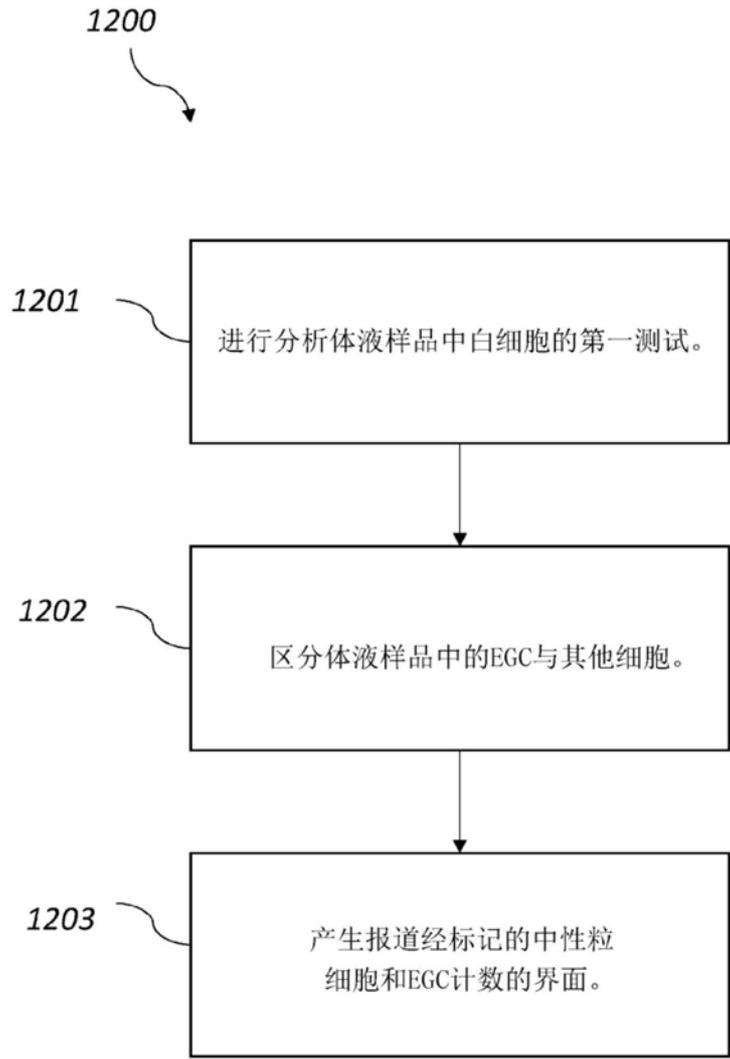


图12

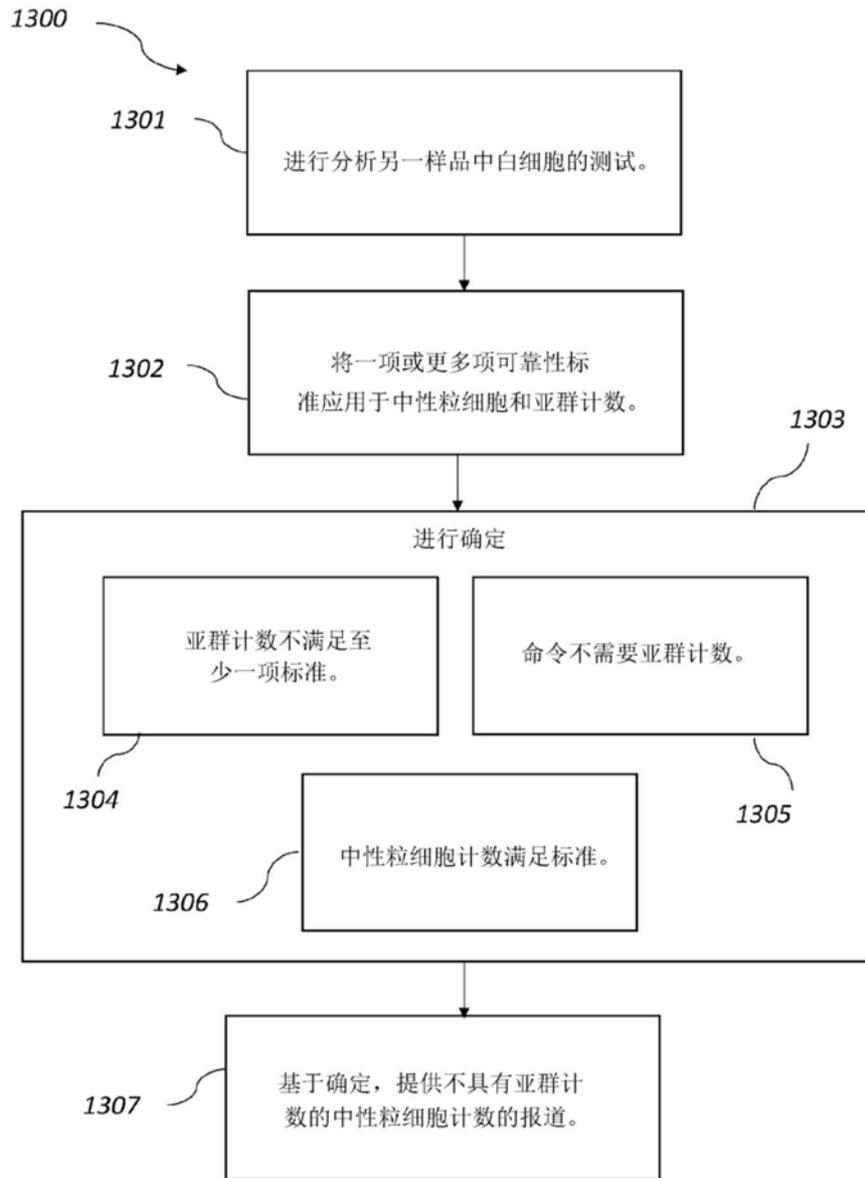


图13