



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105572019 A

(43) 申请公布日 2016. 05. 11

(21) 申请号 201510925467. 1

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2011. 04. 11

G01N 15/14(2006. 01)

(30) 优先权数据

G01N 21/64(2006. 01)

61/324, 315 2010. 04. 15 US

G01N 33/50(2006. 01)

(62) 分案原申请数据

201180018288. X 2011. 04. 11

(71) 申请人 洛伊克德克斯有限公司

地址 以色列耶路撒冷

(72) 发明人 哈维·李·卡斯丹 梅纳什·拉胡安

耶霍舒亚·布罗德

朱利安·梅索尼耶 布鲁斯·戴维斯

约阿夫·祖塔

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

有限公司 11262

代理人 李慧慧 郑霞

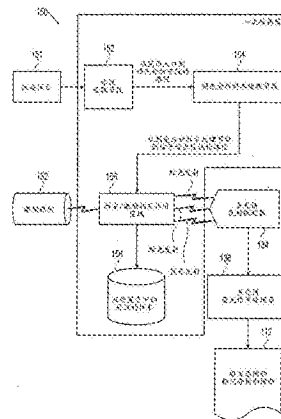
权利要求书4页 说明书18页 附图14页

(54) 发明名称

用于快速确定医学疾病的设备、系统和方法

(57) 摘要

本申请涉及用于快速确定医学疾病的设备、系统和方法。提供了一种用于确定医学疾病的系统和方法,所述系统包括:一次性药筒,其适合于接收一定体积的体液,所述药筒包括多个节段,所述节段中的至少一个适合于使至少一种反应物与体液发生反应以形成预处理过的样本;和光学单元,其包括适合于将辐射传递到预处理过的样本的至少一个激励照射器、至少一个多光谱发射探测器以及光子计数器和积分器中的至少一个,其中所述至少一个激励照射器和所述至少一个多光谱发射探测器布置在所述药筒的同一侧上;且其中所述光学单元适合于探测由所述辐射和药筒中的所述预处理过的样本的相互作用产生的多个光谱上不同的信号,从而确定所述医学疾病。



1. 一种便携式流式细胞仪系统,其用于快速处理多个样本以便在所述样本中确定细胞相关的生物学标记,所述系统包括:

a) 大量的一次性药筒,每个药筒适合于接收一定体积的流体样本,所述流体样本选自体液样本和从所述体液样本得到的样本中的至少一个,每个所述药筒包括多个节段,所述节段中的至少一个包括适合于使至少一种反应物与所述体液混合并且发生反应以形成预处理过的样本的至少一个混合元件;

b) 光学单元,其包括:

i. 至少一个激励照射器,其适合于经由第一路径将辐射传递到所述预处理过的样本;

ii. 至少一个多光谱发射探测器;以及

iii. 光子计数器和积分器中的至少一个,

其中所述至少一个激励照射器和所述至少一个多光谱发射探测器布置在所述药筒的同一侧上;且其中所述光学单元适合于经由所述第一路径的至少一部分接收并探测由所述辐射和所述药筒中的所述预处理过的样本的相互作用产生的多个光谱上不同的信号;

c) 机械组件,其适合于将所述大量的所述一次性药筒中的每一个连续地传递至所述光学单元,以在所述第一路径中对准所述药筒中的毛细管区域;以及

d) 计算机,其适合于接收关于所述多个光谱上不同的信号的数据,以处理所述数据并输出与所述医学疾病有关的至少一个输出,从而确定所述细胞相关的生物学标记。

2. 根据权利要求1所述的便携式流式细胞仪系统,其中所述至少一个激励照射器包括激光器、发光二极管(LED)以及电弧灯中的至少一个。

3. 根据权利要求2所述的便携式流式细胞仪系统,其中所述光学单元还包括被配置用于所述激励照射通过其中以到达所述毛细管区域的多个光学元件和光学物镜。

4. 根据权利要求3所述的便携式流式细胞仪系统,其中,所述光学单元还包括聚焦透镜、狭缝、凹光栅和光电倍增管(PMT)阵列。

5. 根据权利要求4所述的便携式流式细胞仪系统,其中,所述光学单元还包括被布置为接收来自所述毛细管区域的发射辐射的分色滤光器、分束器和高通滤波器。

6. 根据权利要求5所述的便携式流式细胞仪系统,其中,所述分色滤光器允许所述多光谱发射的只有一部分通过其中并且不允许多光束激励的波长通过其中。

7. 根据权利要求6所述的便携式流式细胞仪系统,其中,所述毛细管区域被配置成允许来自所述样本的粒子的流动成单行的。

8. 根据权利要求7所述的便携式流式细胞仪系统,其中,所述粒子包括细胞。

9. 根据权利要求7所述的便携式流式细胞仪系统,其中,所述毛细管区域流体地连接预先分析组件和收集组件。

10. 根据权利要求7所述的便携式流式细胞仪系统,其中,所述粒子中的至少一些包括至少一个分子标记。

11. 根据权利要求5所述的便携式流式细胞仪系统,其中,所述光电倍增管(PMT)阵列被布置成捕获来自所述粒子的荧光。

12. 根据权利要求5所述的便携式流式细胞仪系统,其中,所述多个光谱上不同的信号中的每个信号与至少一个预定的分子标记相关联。

13. 根据权利要求1所述的便携式流式细胞仪系统,其重量小于20kg,并具有小于

50x38x23cm的空间尺寸。

14. 根据权利要求1所述的便携式流式细胞仪系统,其适合于每小时处理4到500个药筒。

15. 根据权利要求1所述的便携式流式细胞仪系统,其中所述多个节段包括下列项中的至少一个:

- a) 流体样本吸取节段,其适合于直接或间接地接收来自患者的所述流体样本;
- b) 预先分析样本处理节段;
- c) 样本激励/相互作用节段;以及
- d) 用过的样本处置节段。

16. 根据权利要求15所述的便携式流式细胞仪系统,其中所述预先分析样本处理节段包括下列项中的至少一个:

- a. 适合于使用至少一种抗体培养所述流体样本的培养箱元件;
- b. 适合于使用至少一种抗原培养所述流体样本的培养箱元件;
- c. 第一混合元件,其适合于将所述流体样本中的至少一种细胞类型与着色剂和标记中的至少一个混合,以形成着色的细胞类型和带标记的细胞类型中的至少一个;
- d. 起反应元件,其适合于使所述流体样本的至少一种细胞类型与所述至少一种反应物发生反应,以形成所述预处理过的样本;
- e. 热元件,其适合于加热或冷却所述体液的至少部分;
- f. 第二混合元件,其适合于将所述流体样本中的至少一种细胞类型与至少一种基准材料混合;以及
- g. 反应元件,其适合于在所述至少一种反应物和所述流体样本的至少一种元素之间形成化学反应。

17. 根据权利要求1所述的便携式流式细胞仪系统,其中所述医学疾病是败血症。

18. 根据权利要求1所述的便携式流式细胞仪系统,其中所述至少一种反应物包括对生物学标记特定的多个荧光标记的抗体。

19. 根据权利要求1所述的便携式流式细胞仪系统,还包括用于显示所述至少一个输出的显示器。

20. 根据权利要求1所述的便携式流式细胞仪系统,还包括用于原始荧光数据的数据分析的软件和算法。

21. 根据权利要求20所述的便携式流式细胞仪系统,其适合于提供每个所述药筒中提供的生物学标记的定量贡献。

22. 根据权利要求18所述的便携式流式细胞仪系统,其中,所述输出包括所述样本和参考的多个光波段中的发射幅度的图形显示。

23. 一种用于确定细胞相关的生物学标记的快速流式细胞计数方法,所述方法包括:

- a) 向一次性药筒提供体液样本和从所述体液样本得到的样本中的至少一个;
- b) 将所述药筒引入便携式护理点(POC)流式细胞仪系统;
- c) 激活所述流式细胞仪系统以引起所述药筒中的至少一个反应;
- d) 在步骤a)之后的一个小时之内从所述系统接收输出,从而提供所述细胞相关的生物学标记的指示。

24. 根据权利要求23所述的的方法,其中所述至少一个反应包括:
- i. 使至少一种反应物与所述药筒中的所述体积的至少一部分发生反应以形成处理过的样本;
 - ii. 将辐射从所述系统中的光学单元照射在所述药筒中的所述处理过的样本上,从而在所述光学单元的方向上产生多个光谱上不同的信号;以及
 - iii. 探测所述光学单元中的由所述辐射和所述预处理过的样本的相互作用产生的多个光谱上不同的信号。
25. 根据权利要求24所述的的方法,其中所述反应步骤包括下列操作中的至少一个:
- a. 使用至少一种抗体培养体积的至少部分;
 - b. 使用至少一种抗原培养所述体积的至少部分;
 - c. 将所述体积中的至少一种细胞类型与着色剂和标记中的至少一个混合,以形成着色的细胞类型和带标记的细胞类型中的至少一个;
 - d. 使所述体积的至少一种细胞类型与所述至少一种反应物发生反应,以形成所述预处理过的样本;
 - e. 热处理所述体积的至少部分;
 - f. 将部分的所述体积的至少一种细胞类型与至少一种基准材料进行混合;以及
 - g. 在至少一种反应物和所述体积的至少一种元素之间形成化学反应。
26. 根据权利要求25所述的的方法,还包括将所述处理过的样本放置在所述药筒的用过的样本处置节段中。
27. 根据权利要求24所述的的方法,其中所述方法进行少于三十分钟。
28. 根据权利要求27所述的的方法,其中所述方法进行少于二十分钟。
29. 根据权利要求28所述的的方法,其中所述方法进行少于十分钟。
30. 根据权利要求24所述的的方法,其中所述方法被应用于大量的药筒,以提供所述细胞相关的生物学标记的大量指示。
31. 根据权利要求30所述的的方法,其中所述细胞相关的生物学标记与人类受试者的医学疾病相关联。
32. 根据权利要求31所述的的方法,其中所述大量包括4-100。
33. 根据权利要求32所述的的方法,其中所述指示包括4-100个指示。
34. 根据权利要求32所述的的方法,其中,在所述一个小时之内提供所述指示。
35. 根据权利要求34所述的的方法,其中,所述体液样本包括少于100微升。
36. 根据权利要求34所述的的方法,其中,对于不同药筒重复步骤a)至d)多达100次。
37. 根据权利要求35所述的的方法,其中,所述处理过的样本包括粒子,所述粒子适合于以基本上成单行的方式流动而经过所述辐射。
38. 根据权利要求37所述的的方法,其中,所述粒子包括白血细胞。
39. 根据权利要求38所述的的方法,其中,所述白血细胞包括中性白细胞。
40. 根据权利要求34所述的的方法,其中,所述医学疾病是败血症。
41. 根据权利要求40所述的的方法,其中,所述受试者的所述败血症在三十分钟之内被确定。
42. 根据权利要求30所述的的方法,其中所述标记是CD64特异性的和CD163特异性的中至

少一个。

用于快速确定医学疾病的设备、系统和方法

[0001] 本申请是申请日为2011年4月11日,申请号为201180018288.X,发明名称为“用于快速确定医学疾病的设备、系统和方法”的申请的分案申请。

发明领域

[0002] 本发明一般涉及人类诊断学领域,且特别是涉及细胞相关的生物学标记的基于荧光的分析。

[0003] 发明背景

[0004] 在医疗诊断领域中对于快速和准确的信息有很大的要求。通常优选地,不应用治疗药剂和总体患者疗法,直到可操作的患者诊断信息是可得到的。已开发了用于识别大量疾病的病原体的许多方法。PCR、ELISA、流式细胞术、横向流动和其它方法通常用于识别与人类疾病相关的病原菌种类。

[0005] 败血症是一种由身体对全身炎症反应综合征(SIRS)的反应导致的极端的情况,全身炎症反应综合征(SIRS)是由病原体引起的。败血症可能常常导致大规模的器官衰竭和死亡。败血症通常通过一般的患者特征例如体温、心率、呼吸率以及白细胞计数来识别。近来,几个基已识别出可用于识别在患者体内出现的败血症的标记或生物学标记的组合。知道患者处于败血状态或可能正向对细菌、病毒或真菌感染的败血反应的方向前进对于正确的患者管理和药物选择是至关重要的。

[0006] Recktenwald和Chen的美国专利4,745,285教导了一种用于使用多荧光分析来确定粒子的一个或多个特性的方法,其涉及将入射光束指向在分析中的粒子。粒子包括至少三个荧光标记,每个荧光标记具有不同的发射光谱。入射光束通过在单一波长处的光引起标记的激励,由此不同波长的荧光从粒子发射。同时探测与在分析中的粒子相关联的不同的荧光发射。此方法还包括将所探测的荧光与粒子的一种或多种特性相关联。一种装置也是用于实现上述方法的本发明的一部分。

[0007] Bierre和Mikaels的美国专利5,627,040教导了一种用于自动聚集N维数据流的方法。该发明在分析来自流式细胞仪的多参数数据方面有特定效用,且更特别地在分析来自全血细胞的数据方面有效用,全血细胞用荧光标记的CD3、CD4和CD8单克隆抗体加上标签,已知数量的荧光微珠添加到这些抗体。

[0008] Nelson等人的美国专利6,636,623描述了一种用于使用分子标记区室化来快速探测与恶性肿瘤和疾病相关的细胞的系统和方法,分子标记区室化包括能够从标记有加标签的分子探针或着色剂的一个或多个细胞产生包含准确的密度信息的各种光学投影图像(或人身辐射相)的光学层析成像(OT)或流动光学层析成像(FOT)仪器、分析投影图像并将投影图像重构成多维数据集的计算机和软件、以及自动化的特征收集和对象分类器。该系统和方法在癌症的早期检测例如使用来自唾液或脸颊刮屑的细胞探测肺癌以及使用子宫颈刮屑探测宫颈癌/卵巢癌方面是特别有用的。该系统可用于探测在包括血液的标本中的罕见的细胞。

[0009] Ellison等人的美国专利7,024,316描述了一种流式细胞计量装置和方法,以处理

附带于被夹带在鞘液流中的粒子或细胞的信息,允许这样的粒子或细胞甚至在高速率下的评估、区分、分配和分离。第一信号处理器单独地或结合至少一个额外的信号处理器来对来自信号的数据应用补偿转换。补偿转换可涉及对来自至少一个信号的数据的复杂的操作以补偿一个或多个操作参数。补偿的参数可返回到第一信号处理器用于提供定义粒子和将粒子彼此区分开所基于的信息。

[0010] Padmanabhan等人的美国专利申请20050255600描述了一种在患者的护理点例如在医生的办公室、在家里或在现场的其它地方使用的样本分析仪药筒。通过提供带有所有所需的试剂和/或流体的可移除的和/或一次性药筒,样本分析仪可以可靠地在实验室环境外被使用,而有很少或没有专门培训。

[0011] Davis等人的国际专利申请WO 2006/0055816描述了一种量化白细胞中的CD64和CD163表达的方法,以及特别是供流式细胞仪使用的成套组件,包括定量的荧光微珠标准的悬浮液、针对CD64和CD163的荧光标记的抗体、和分析软件。该软件用于从流式细胞仪获取关于微珠悬浮液和荧光标记的抗体的信息并分析数据、使曲线平滑、计算新参数、提供质量控制措施以及通知化验探测系统期满。

[0012] Tai等人的国际专利申请WO 2008/124,589描述了关于微流控设备的特定的实施方式,微流控设备可用于细胞感测、计数和/或分类。特定的方面涉及能够区分开单细胞类型与密集的细胞群的微制造设备。一个特定的实施方式涉及用于对来自未稀释的全血样本的白细胞进行感测、计数和/或分类的使用微制造设备的设备和方法。

[0013] Jacobsen等人的国际专利申请WO 2009/003493教导了用于化验存在于样本中的实体的方法。该方法包括许多单独的步骤,例如获得样本、准备用于化验的样本以及化验样本的步骤。该方法可以包括与样本处理或作为化验了样本的结果而获得的数据的处理相关的另外的可选处理步骤。可以例如针对一个或多个实体的存在来最初化验样本。化验样本的步骤还可以包括分析一个或多个实体的一种或多种特性的步骤。基于在样本中的一个或多个的实体的存在的确定或一个或多个实体的分析的结果,该方法可以包括一个或多个另外的处理步骤,例如与经受化验过程的样本中的一个或多个实体的划分和/或隔离相关联的数据处理步骤和/或样本处理步骤。

[0014] 许多现有技术探测方法需要使用昂贵的实验室分析仪,其提供图形/数据输出。这些输出由专业人员分析以便提供诊断或确定。这些种类的探测方法是昂贵的、专业上劳动密集的,且通常集中在医院实验室。因此仍然需要提供用于患者状态的快速诊断的诊断装置和方法。

[0015] 发明概述

[0016] 本发明的目的是提供为了确定患者的健康状态的目的而允许分析与体液相关联的粒子的设备、方法和系统。

[0017] 因此,根据本发明的一个实施方式,提供了一种用于确定医学疾病的系统,该系统包括;

[0018] a)一次性药筒,其适合于接收一定体积的体液,药筒包括多个节段,所述节段中的至少一个适合于使至少一种反应物与体液起反应以形成预处理过的样本;以及

[0019] b)光学单元,其包括;

[0020] i.至少一个激励照射器,其适合于将辐射传递到预处理过的样本;

- [0021] ii.至少一个多光谱发射探测器;以及
- [0022] iii.光子计数器和积分器中的至少一个,
- [0023] 其中至少一个激励照射器和至少一个多光谱发射探测器布置在药筒的同一侧上;且其中光学单元适合于探测由辐射和药筒中的预处理过的样本的相互作用产生的多个光谱上不同的信号,由此确定医学疾病。
- [0024] 此外,根据本发明的一个实施方式,该系统还包括计算机和处理器,计算机适合于接收与多个光谱上不同的信号有关的数据,处理器适合于处理数据并输出与医学疾病有关的至少一个输出。
- [0025] 而且,根据本发明的一个实施方式,多个光谱上不同的信号中的每个信号与至少一个预定的生物学标记相关。
- [0026] 此外,根据本发明的一个实施方式,至少一个预定的生物学标记是CD64特异性的。
- [0027] 另外,根据本发明的一种实施方式,至少一个预定的生物学标记是CD163特异性的。
- [0028] 仍然进一步地,根据本发明的一个实施方式,多个节段包括下列项中的至少一个;
- [0029] a)体液吸取节段,其适合于直接或间接地接收来自患者的体液;
- [0030] b)预先分析样本处理节段;
- [0031] c)样本激励/相互作用节段;以及
- [0032] d)用过的样本处置节段。
- [0033] 此外,根据本发明的一个实施方式,预先分析样本处理节段包括下列项中的至少一个;
- [0034] i.适合于使用至少一种抗体培养体液的培养箱元件;
- [0035] ii.适合于使用至少一种抗原培养体液的培养箱元件;
- [0036] iii.第一混合元件,其适合于将体液中的至少一种细胞类型与着色剂和标记中的至少一个进行混合,以形成着色的细胞类型和带标记的细胞类型中的至少一个;
- [0037] iv.起反应元件,其适合于使体液的至少一种细胞类型与至少一种反应物发生反应,以形成预处理过的样本;
- [0038] v.热元件,其适合于加热或冷却体液的至少部分;
- [0039] vi.第二混合元件,其适合于将体液中的至少一种细胞类型与至少一种基准材料混合;以及
- [0040] vii.反应元件,其适合于在至少一种反应物和体液的至少一种元素之间形成化学反应。
- [0041] 此外,根据本发明的一个实施方式,样本激励/相互作用节段包括薄的金属衬里层。
- [0042] 此外,根据本发明的一个实施方式,光学单元包括物镜,该物镜适合于;
- [0043] a)将辐射传递到预处理过的样本;以及
- [0044] b)接收多个光谱上不同的信号。
- [0045] 此外,根据本发明的一个实施方式,样本激励/相互作用节段垂直于物镜的光路而布置。
- [0046] 此外,根据本发明的一个实施方式,所述至少一个激励照射器包括激光器、发光二

极管(LED)以及电弧灯中的至少一个。

[0047] 此外,根据本发明的一个实施方式,预处理过的样本包括粒子,粒子适合于以基本上成单行的方式流动而经过辐射。

[0048] 此外,根据本发明的一个实施方式,医学疾病是败血症。

[0049] 另外,根据本发明的一个实施方式,读出器单元包括多个波长特定的光电倍增管。

[0050] 此外,根据本发明的一个实施方式,粒子是白血细胞。

[0051] 此外,根据本发明的一个实施方式,白血细胞包括中性白细胞。

[0052] 此外,根据本发明的一个实施方式,至少一种反应物包括对生物学标记特定的多个荧光标记的抗体。

[0053] 此外,根据本发明的一个实施方式,该系统包含在尺寸小于 $50 \times 30 \times 15$ cm的便携式容器中。

[0054] 根据本发明的另一实施方式,该系统重量小于15kg。

[0055] 因此,根据本发明的另一实施方式,提供了一种用于确定患者的健康状况的存在的方法,该方法包括:

[0056] a)使至少一种反应物与多节段的一次性药筒中的体液发生反应,以形成处理过的样本;

[0057] b)使辐射从光学单元照射在一次性药筒中的处理过的样本上,从而在光学单元的方向上产生多个光谱上不同的信号;以及

[0058] c)探测光学单元中的通过辐射和预处理过的样本的相互作用产生的多个光谱上不同的信号,从而确定医学疾病。

[0059] 此外,根据本发明的一个实施方式,步骤a)至c)对多个预处理过的样本顺序地执行。

[0060] 根据本发明的另一实施方式,步骤a)至c)在一小时内对4至100个样本执行。

[0061] 此外,根据本发明的一个实施方式,多个光谱上不同的信号中的每个信号与至少一个预定的生物学标记相关联。

[0062] 此外,根据本发明的一个实施方式,至少一个预定的生物学标记是CD64特异性的。

[0063] 此外,根据本发明的一个实施方式,至少一个预定的生物学标记是CD163特异性的。

[0064] 根据本发明的一个实施方式,反应步骤包括下列操作中的至少一个;

[0065] a)直接或间接地接收来自患者的体液;

[0066] b)执行至少一个预先分析反应;

[0067] c)激励处理过的样本;以及

[0068] d)将处理过的样本放置在用过的样本处置节段中。

[0069] 此外,根据本发明的一个实施方式,至少一个预先分析反应包括下列操作中的至少一个;

[0070] i. 使用至少一种抗体培养体液;

[0071] ii. 使用至少一种抗原培养体液;

[0072] iii. 将体液中的至少一种细胞类型与着色剂和标记中的至少一个进行混合,以形成着色的细胞类型和带标记的细胞类型中的至少一个;

- [0073] iv.使体液的至少一种细胞类型与至少一种反应物发生反应以形成预处理过的样本；
- [0074] v.热处理体液的至少部分；
- [0075] vi.将体液中的至少一种细胞类型与至少一种基准材料进行混合；以及
- [0076] vii.在至少一种反应物和体液的至少一种元素之间形成化学反应。
- [0077] 此外,根据本发明的一个实施方式,该方法还包括对来自患者的第一样本执行步骤a)至c)。
- [0078] 此外,根据本发明的一个实施方式,该方法还包括等待一段时间,并然后对另一样本重复步骤a)至c)。
- [0079] 此外,根据本发明的一个实施方式,体液包括小于100微升。
- [0080] 另外,根据本发明的一个实施方式,医学疾病是败血症。
- [0081] 因此,根据本发明的另一实施方式,提供了用于确定患者的健康状况的存在的计算机软件产品,该产品包括计算机可读介质,程序指令存储在计算机可读介质中,所述指令在被计算机读取时使计算机
- [0082] a)使至少一种反应物与多节段的一次性药筒中的体液发生反应以形成处理过的样本；
- [0083] b)将辐射从光学单元照射在一次性药筒中的处理过的样本上,从而在光学单元的方向上产生多个光谱上不同的信号;以及
- [0084] c)探测光学单元中的通过辐射和预处理过的样本的相互作用产生的多个光谱上不同的信号,从而确定医学疾病。
- [0085] 本发明还提供了一种用于确定患者的健康状态的设备,其包括:一次性药筒,其能够接收一定体积的体液,该药筒包括用于体液的分析和预处理的多种化学物;至少一个光源,其中光源能够照射体液中的粒子,其中粒子流动或移动而经过由所述光源产生的光;以及读出器单元,读出器单元能够探测由光和药筒中的粒子的相互作用所产生的多个光谱上不同的信号,其中每个信号与至少一个预定的生物学标记相关联。
- [0086] 在该设备的一个方面,光源是激光器。在该设备的另一个方面,光源是LED。在该设备的另一个方面,光源是电弧灯。
- [0087] 在该设备的另一方面,粒子以基本上成单行的方式流动而经过所述光,使得甚至对于在相互作用区域中的一个或多个粒子,独立的粒子信息也可以被获得。
- [0088] 在该设备的另一方面,粒子以基本上成单行的方式移动而经过所述光,使得甚至对于在相互作用区域中的一个或多个粒子,独立的粒子信息被获得/可以被获得。
- [0089] 在该设备的另一方面,体液是血液或从血液得到。
- [0090] 在该设备的另一方面,疾病状态是败血症。
- [0091] 在该设备的另一方面,读出器单元包括多个波长特定的光电倍增管。
- [0092] 在该设备的另一方面,读出器单元包括多个波长特定的光电倍增管阵列元件。
- [0093] 在该设备的另一方面,读出器单元包括多个波长特定的雪崩光电二极管。
- [0094] 在该设备的另一方面,读出器单元包括多个波长特定的雪崩光电二极管阵列元件。
- [0095] 在该设备的另一方面,读出器单元包括多个波长特定的光电探测器。

- [0096] 在该设备的另一方面,读出器单元包括多个波长特定的光电探测器元件。
- [0097] 在该设备的另一方面,至少一个预定的生物学标记是CD64特异性的。
- [0098] 在该设备的又一方面,粒子是白血细胞。
- [0099] 在该设备的另一方面,粒子是珠子。
- [0100] 在该设备的另一方面,多种化学物包括对预定的生物学标记特定的多种荧光标记的抗体。
- [0101] 在该设备的另一方面,读出器单元包括8个光电倍增管或阵列元件。
- [0102] 在该设备的另一方面,还包括用于将荧光数据转换为预定的生物学标记信息的存在的算法。
- [0103] 在该设备的另一方面,白细胞是中性白细胞。
- [0104] 在该设备的另一方面,来自患者的一序列的测量结果被存储或来自患者的多序列的测量结果被存储。
- [0105] 在该设备的另一方面,来自患者的一序列的测量结果被分析。
- [0106] 本发明包括用于确定患者的预定的健康状况的存在的方法,其包括:提供血液样本;将血液样本的一部分放置在一次性药筒中,其中药筒包括用于样本的处理的多种化学物;穿过药筒的一个区域传递血液样本的所述部分,其中该区域部分地暴露于由至少一个光源产生的光;记录因光与血液样本中的粒子的相互作用而产生的吸收数据;分析吸收数据;按照波长确定吸收特性;以及响应于吸收特性而向设备的用户显示预定的疾病状态的存在。
- [0107] 在该方法的一个方面,至少一个分子标记是多个分子标记。在该方法的另一方面,分子标记与多个独特的荧光化合物相关联。在该方法的另一方面,在至少两个独特的场合针对预定的疾病状态的存在分析患者。在该方法的另一方面,血液样本的部分少于100微升。在该方法的另一方面,预定的疾病是败血症。在该方法的又一方面,还包括针对中性白细胞的左移分析血液样本。
- [0108] 本发明还包括用于探测与三个独特的分子标记相关联的至少三个荧光标签的设备,三个独特的分子标记与预定的疾病状态相关联,该设备包括:能够接收一定体积的全血样本的一次性药筒,药筒包括用于血液的分析预处理的多种化学物;至少一个光源,其中光源能够照射流体中的粒子,其中药筒结构、粒子流、照射和信号处理的组合允许确定单独粒子的光谱特征。例如:粒子以基本上成单行的方式在血液中流动而经过由光源产生的光,使得甚至对于在相互作用区域中的一个或多个粒子,单独的粒子信息被获得/可以获得;以及,读出器单元,读出器单元能够探测通过光和药筒中的粒子的相互作用产生的多个光谱上不同的荧光信号,其中每个信号与分子标记中的至少一个相关联。
- [0109] 在该设备的一个方面,荧光化合物包括FITC、PE和Syto。
- [0110] 在该设备的另一方面,来自患者的所述序列的所存储的测量结果被分析以确定患者的健康状态。
- [0111] 本发明的系统提供了优于已知技术的几个优点。首先,该系统包括光学元件的布置,其允许构造和使用可被移动到患者床边的“小”的流式细胞仪,以实现护理点(POC)应用。该系统允许多个独特的荧光信号的探测和分辨,每个荧光信号与一个预定的分子标记相关联。本发明还包括独特的一次性药筒,其允许样本的分析预处理,以便促进标记特定的

荧光探针结合到血液样本中的它们的目标。药筒还便于在细胞仪光学器件的物镜下面的白血细胞(或其它粒子)的通过以允许预定的分子标记的存在/不存在的测量和探测。典型的标记包括但不限于识别激活的中性白细胞的CD64、独立于白血细胞类型、数量、大小和形状的测量而识别和区分表达CD64的单核细胞与表达CD64的中性白细胞的CD163。系统光学器件的部分可以包括在一次性药筒中,同时各种方法可以被采用以使样本穿过药筒中的毛细管节段用于与细胞仪光进行相互作用。细胞仪可按照特定的应用和测试所需的波长与激光器、LED、灯光一起工作。

[0112] 只需要从单侧进入药筒的探测区域因而允许特殊的表面或药筒的其它处理的epi-光学系统的组合显著减少了药筒材料的自体荧光。当激励在探测通道的一侧上被引入并且发射在另一侧上被探测时,该减少是不可能的。

[0113] 本发明从结合附图理解的其优选实施方式的以下详细描述中将被更充分地理解。

[0114] 附图简述

[0115] 现将结合某些优选实施方式参照下面的说明性附图来描述本发明,以使它可以被更充分地理解。

[0116] 现在,特别详细参照附图,强调示出的细节是作为例子且仅仅为了本发明的优选实施方式的说明性讨论的目的,并且为了提供被认为是本发明的原理和概念方面的最有用的和最容易理解的描述而被提出。在这方面,并没有做出比对于本发明的基本理解所必要的更详细地显示本发明的结构细节的努力,使用附图理解的描述使本发明的几种形式可如何体现在实践中对本领域的技术人员变得明显。

[0117] 在附图中:

[0118] 图1A是示出根据本发明的一个实施方式的用于医学疾病的快速确定的系统的简化示意图;

[0119] 图1B是根据本发明的一个实施方式的用于医学疾病的快速确定的图1A的系统的一次性药筒的简化示意图;

[0120] 图2是示出根据本发明的一个实施方式的用于医学疾病的快速确定的另一个系统的简化示意图;

[0121] 图3是根据本发明的一种实施方式的图1或图2的系统的单元的光学单元的简化的分解示意图;

[0122] 图4A是根据本发明的一个实施方式的图3的单元的光学布置的简化示意图;

[0123] 图4B是根据本发明的一个实施方式的图3的单元的光学布置的另一简化示意图;

[0124] 图5A是根据本发明的一个实施方式的图4A或图4B的单元中的多波长激励的一个实例的示意性表示;

[0125] 图5B示出根据本发明的一个实施方式的作为图4B的分色滤光器的波长的函数的透射的曲线输出,该分色滤光器采用图5A的多波长激励;

[0126] 图5C是根据本发明的一个实施方式的采用图5A的多波长激励和图5B的分色滤光器的单元的部分的示意性表示;

[0127] 图6是根据本发明的一个实施方式的图1或图2的系统的采样药筒的示意图;

[0128] 图7示出根据本发明的一个实施方式的图1或图2的系统的一次性药筒的可选的实

施方式的示意图；

[0129] 图8示出根据本发明的一个实施方式的在流式细胞仪设备中的一次性药筒的示意图；

[0130] 图9示出根据本发明的一个实施方式的来自图1或图2的系统的软件输出的示例性图；

[0131] 图10是根据本发明的一个实施方式的用于医学疾病的快速确定的方法的简化流程图；

[0132] 图11是示出根据本发明的一个实施方式的参考珠(RM)相对于来自人类患者(PMN)的样本的随时间过去的光输出的三维曲线图；以及

[0133] 图12A-12C示出根据本发明的一个实施方式的参考珠和来自人类患者的样本的随时间过去的光输出的曲线图。

[0134] 在所有附图中,类似的参考数字标识类似的部分。

[0135] 实施方式的详细描述

[0136] 在以下描述中,为了提供本发明的透彻理解,许多具体细节被阐述。然而,对于本领域技术人员将明显,本发明可以在没有这些具体细节的情况下被实践。在其它情况下,为了不使本发明不必要地难以理解,众所周知的电路和控制逻辑未详细示出。下面的定义用于帮助理解本发明。

[0137] 定义

[0138] 为了便于更好地理解本发明,现定义某些术语。在术语未被定义の場合,应理解,在相关领域中通常被接受的含义可以与所述术语相关联。因此,“血液”、“白细胞”及“抗体”可以具有如在生物学领域中被理解的其正常的含义,而“激光器”、“光束分离器”和“分色滤光器”可以具有如在光学领域中被理解的其正常的含义。

[0139] “试管”、“药筒”和“一次性药筒”一般可以指元件,为了诊断分析的目的,生物流体的样本可进入该元件。该元件可包括多个特征,包括但不限于预先分析处理、样本的方向特定的流动、和光栅组件。“药筒”通常被使用一次并且用于从血液得到的单一的样本。药筒可被实现为多个药筒。药筒可由塑料或任何相关的材料制成,且可被提供以湿的或干的形式多种化学物。

[0140] “流式细胞仪”可具有来自诊断领域的通常被理解的意义。用于本发明的流式细胞仪可以是“桌面”大小的,以允许护理点(POC)应用。此外,根据本发明的流式细胞仪通常将具有所有样本操纵,且流动发生在相关的一次性药筒中而不是在流式细胞仪本身中。

[0141] “疾病曲线”可涉及将生物学标记或白血状态的水平显示为时间的特征的图表、曲线或类似图形。因为任何诊断测量在所述测量被进行时的时间产生关于患者的具体健康状况的信息,医学执业者可以采用关于患者的健康状况的重要信息。通过在一段预定的时间期间进行多个测试,医学执业者可以比较结果与预定的疾病曲线以知道患者的健康正朝哪个方向前进。疾病曲线通常被限定在一段延长的时间期间(以小时或天测量)测试具有已知条件的个体,以便定义在这段时间期间的生物学标记的水平。这些水平将定义疾病曲线,用于由内科医生等稍后使用,以确定患者相对于发展中的条件的条件的时间位置。

[0142] “读出器单元”或“探测器”是在本发明中可以接收和/或处理数据的元件或单元。读出器单元可以包括计算机,且可具有额外的功能,包括但不限于数据分析和显示给用户。

[0143] 在不被任何特定的理论约束的情况下,下面的讨论被提供以便于理解本发明。流式细胞仪是在全世界用于血液和其它样本的分析的公知方法。现今,最大的挑战之一是识别多个独立的、相关的目标,以进一步了解患者的健康状况。虽然一些疾病(咽喉中的链球菌感染)常常可以通过单个测试被诊断,但是许多复杂的医学疾病可能只能通过多个生物学标记的探测、分析和研究被准确地定义。因此,流式细胞仪必须例如能够定义白血细胞的多个特征,以便给出患者的败血症的潜在状态的有价值的信息。此外,可能需要在一段时间期间的多个测量来监测所述特征,以便更好地限定患者在疾病曲线上的什么位置。

[0144] CD64是在巨噬细胞、单核细胞、中性白细胞和嗜曙红细胞上表达的高亲和性的和限制的同位型特异性Fc γ RI受体。

[0145] CD163是与单核细胞/巨噬细胞相关的抗原,其最近已被识别为血红蛋白清道夫受体。

[0146] 在本文中公开的各种实施方式中,类似的元件具有相差100的倍数的类似的参考数字。

[0147] 现参照图1A,其是示出根据本发明的一个实施方式的用于医学疾病的快速确定的系统100的简化示意图。系统100可被认为是流式细胞仪或微流式细胞仪,尽管它在其结构、尺寸和操作上不同于在本领域中已知的标准的现有技术流式细胞仪。

[0148] 注意力转向图1A,其示出根据本发明的一个实施方式的系统100。计算机110用于控制系统100以及用于记录结果。系统100包括电源120,其可以是电池、壁挂电源或电能的任何其它适当的源。电源120将能量输送至光学单元130,光学单元130包括光源135以及相关的聚焦光学器件(在该图中未示出),聚焦光学器件用于通过物镜138将光输送至通常放置在X-Y-Z载物台140上的一次性样本药筒(图6的650和图1B的150)。在光学单元130下的是X-Y-Z载物台140,其允许一次性药筒的一部分(未示出)的容易暴露,用于探测与基于血液的样本(未示出)相关联的生物学标记。X-Y-Z载物台可以由机械组件替换,机械组件通过自动的运动或通过固定的机械约束精确地定位用户插入的药筒。

[0149] 现参照图1B,其是根据本发明的一个实施方式的用于医学疾病的快速确定的图1A的系统的一次性药筒150的简化图。

[0150] 系统100包括一次性药筒,其可以布置在x-y-z载物台140上或者如在图2中示出的布置在旋转载物台240上。载物台适合于垂直于光源135的物镜138的光路对准一次性药筒。

[0151] 一次性药筒150适合于接收体液,例如但不限于血液、尿液、血清或血浆。一次性药筒被构造并配置为具有几个不同的节段152、154、156和158。节段152是体液吸取节段,其适合于直接或间接地接收来自患者(或动物)的体液,且该节段作为体液的储蓄器。

[0152] 一次性药筒150包括在节段之间的流体输送装置,例如但不限于气压、液压、机械装置及其组合。体液吸取节段152适合于将预定量的体液(体液样本151)输送至预先分析样本处理节段154。

[0153] 在预先分析样本处理节段154中,对体液执行至少一个预备步骤,例如但不限于:

[0154] a)使用至少一种抗体培养;

[0155] b)使用至少一种抗原培养;

[0156] c)体液中的至少一种细胞类型的着色;

[0157] d)体液的至少一种细胞类型的酶细胞溶解;

[0158] e)体液的至少一种细胞类型的渗透细胞溶解;

[0159] f)加热或冷却体液的至少部分;

[0160] g)将基准材料添加到体液;以及

[0161] h)与体液的至少一种元素的化学反应。

[0162] 然后体液的预处理过的样本从预先分析样本处理节段154输送到样本激励/相互作用区域或节段156。这个预处理过的样本可被连续地或以批量模式输送至样本激励/相互作用节段156。

[0163] 样本激励/相互作用节段156可被布置在适当位置或被x-y-z载物台140或者如图2所示的旋转载物台240带到适当位置,以位于激励照射器132的光路中,激励照射器132是光学单元130的整体部分。激励照射器被构造和配置成使辐射例如在可见光范围内或外的相干或非相干辐射进入包含预处理过的样本的样本激励/相互作用节段。来自预处理过的样本的一个或多个因而发生的发射从样本激励/相互作用节段156被传递到容纳在光学单元130中的多光谱发射探测器134。样本激励/相互作用节段156被构造和配置成最小化来自一次性样本药筒材料的自体荧光。

[0164] 药筒150由塑料材料构造。样本激励/相互作用节段156包括约0.1-2微米的薄的金属衬里层157(未示出)。该金属可以是铝、金、银、镍、铜或任何其它合适的导电金属或合金。薄的金属衬里层被构造和配置成防止激励照射进入药筒结构的塑料材料。

[0165] 多光谱发射探测器134接收来自预处理过的样本的发射,并适合于对在光谱波段中的光谱发射采样。在一些情况下,这些波段是不重叠的波段。多光谱发射探测器134适合于将代表光谱波段的数据传递给多光谱荧光信号处理器136。

[0166] 多光谱荧光信号处理器136可以包括两个或更多个子元件(未示出),包括:

[0167] a)光子计数器131,其作为光学单元130的部分;

[0168] b)软件元件111(在计算机110中),其用于分析光子计数器输出;以及

[0169] c)用于测量多光谱发射探测器134的其它光输出的其它探测元件(未示出)。

[0170] 药筒还包括用过的样本处置节段158,其适合于接收来自样本激励/相互作用节段的样本。

[0171] 系统还包括适合于接收关于多个光谱上不同的信号的数据的计算机110和适合于处理所述数据并输出与所述医学疾病有关的至少一个输出的处理器。所提供的一种类型的输出是视觉输出,其被输出到计算机的屏幕112上。

[0172] 根据本发明的一些实施方式,系统100被设计为便携式的。在一些情况下,包括计算机110的该系统包含在便携式容器(未示出)例如具有小于 $50 \times 30 \times 15$ cm的尺寸的盒子或箱子中。根据一些实施方式,系统的尺寸是 $40 \times 25 \times 10$ cm,而一次性药筒的尺寸为 $8.5 \times 5.4 \times 0.6$ cm。通常,系统重量小于15kg。根据一些实施方式,系统重量小于10kg。

[0173] 现参照图2,其是示出根据本发明的一个实施方式的用于医学疾病的快速确定的另一系统200的简化示意图。系统200包括用于提供多个样本药筒的旋转载物台240,药筒被看到是载物台240上的圆形凹陷242,在光学单元230的物镜238下方。本发明的系统的一个优点在图2中变得明显。因为样本准备和液体流动具体发生在药筒中,多个样本可以被同时准备,每个样本顺序地被诊断单元220分析。此特征是优于现有技术的一个巨大的优点,在现有技术中样本必须流经流式细胞仪中的单个流动池,并且照这样一次可以处理一个样

本。

[0174] 由于处理时间可以是二十分钟或更长,现有技术流式细胞仪的有效测试速率是每小时三个样本。在本发明中,许多样本可以被准备(预先分析处理),然后顺序地暴露于来自光学单元230的光以记录荧光信号。根据一些实施方式,在一小时内可以处理4-50个样本。根据一些另外的实施方式,在一小时内可以分析多达一百个样本。根据一些另外的实施方式,在一小时内可以分析多达五百个样本。

[0175] 现参照图3,其是根据本发明的一个实施方式的图1的系统100或图2的系统200的光学单元330的简化的分解示意图。光学装置包括主PCB331,其夹在外盖332和多色仪盖333之间。除了激光器340和光学物镜338之外,还存在光学元件334(在图4中进一步定义)、自动聚焦反馈PCB335、光栅阵列336和电源PCB 337。光学单元330中的各种光学元件的组合允许在相对小和紧凑的单元中的多个荧光信号的强大的探测和分辨。这个尺寸特征允许流式细胞仪的POC应用的潜能。

[0176] 现参照图4A,其是根据本发明的一个实施方式的图3的光学单元的光学布置400的简化示意图。激光器440或其它合适的光源提供光束442,其可指向用于记录来自光束442的信号的光学元件,包括分色滤光器443、分束器444、聚焦透镜445、针孔446和硅读出器单元447,光束442穿过物镜438指向样本450并返回到光学单元。另外的光学元件可以包括可选的衰减器448、高通滤波器449、聚焦透镜451、狭缝452、凹光栅453以及PMT阵列454。代表本发明的一个实施方式的元件的布置允许产生激励光、将激励光聚焦在样本上、收集由激励光和样本中的荧光团的相互作用而产生的反射和发射的光信号以及记录所述返回的光,以便响应于来自激光器440的光照射来确定样本的荧光。

[0177] 关于图4A,激光照射442被分色滤光器443反射而穿过物镜438,并聚焦在含有流动粒子458的通道上。该照射激励附到蛋白质标记上的荧光团,蛋白质标记与细胞结合。因而产生的荧光照射被物镜438收集,并且由于该发射的较长的波长,该发射穿过分色滤光器443并被分束器444反射而穿过高通滤波器449。高通滤波器阻挡任何反射的激光照射。聚焦透镜451将多波长发射照射聚焦在狭缝452上。凹光栅453在多个波长处使狭缝在PMT阵列454的元件上成像。这完成了产生荧光发射的多光谱探测的过程。虽然被物镜收集的大部分照射被分束器444反射,但是小部分被允许通过并由聚焦透镜445聚焦而穿过在硅读出器单元447上的针孔446,硅读出器单元447可以是单个光电二极管或焦平面阵列,例如CCD传感器。在聚焦操作期间,当该读出器单元447上的信号被最大化时,最佳聚焦被实现。当这个信号被最大化时,PMT阵列454上的信号强度也被最大化。

[0178] 现参照图4B,其是根据本发明的一个实施方式的图3的光学单元300的光学布置460的简化图。

[0179] 激光器480或其它合适的光源提供光束484,其可指向用于记录来自光束442的信号的光学元件,包括分色滤光器472、分束器468、聚焦透镜466、针孔464和硅读出器单元462,光束442通过物镜438指向样本并返回到光学单元。另外的光学元件可包括可选的衰减器、高通滤波器470、聚焦透镜466、狭缝478、凹光栅482和PMT阵列476。代表本发明的一种实施方式的元件的布置允许产生激励光、将激励光聚焦在样本上、收集由激励光和样本中的荧光团的相互作用而产生的反射和发射的光信号以及记录所述返回的光,以便响应于来自激光器440的光照射来确定样本的荧光。

[0180] 关于图4B,如图4A所示,激光照射被分色滤光器472反射而穿过物镜476并聚焦在含有流动粒子的通道上。该照射激励附到与细胞结合的蛋白质标记的荧光团。因而产生的荧光照射被物镜476收集,并且由于该发射的较长的波长,该发射穿过分色滤光器472并被分束器468反射而穿过高通滤波器470。高通滤波器470阻挡任何反射的激光照射。聚焦透镜466将多波长发射照射聚焦在狭缝478上。凹光栅482在多个波长处使狭缝在PMT阵列454的元件上成像。这完成了产生荧光发射的多光谱探测的过程。虽然被物镜476收集的大部分照射被分束器468反射,但是小部分被允许通过并穿过针孔464聚焦在硅读出器单元462上。在聚焦操作期间,当该读出器单元上的信号被最大化时,最佳聚焦被实现。当该信号被最大化时,PMT阵列476上的信号强度也被最大化。

[0181] 现参照图5A,其是根据本发明的一个实施方式的图4A或图4B的光学单元中的多波长激励的一个实例的示意性表示500。图5A-5C示出了图4A和图4B的光学配置的扩展,以允许多个激励波长。图5A示出用于组合不同波长的多个激光以产生包含所有波长的单个同轴光束514的配置。两个不同的波长例如502绿光和506红光可以使用二向色镜504进行组合。光束之一——红光506被二向色镜反射,而第二光束——绿光502穿过二向色镜以产生黄色的、包含两个波长的单个光束508。这个组合波长光束现在被用作到第二二向色镜510的输入之一,其具有被第二二向色镜反射以产生包含全部三个波长的单个同轴光束的第三波长512。

[0182] 现参照图5B,其示出根据本发明的一个实施方式的作为采用图5A的多波长激励的图4B的分色滤光器的波长的函数的透射的曲线输出520。与图5C的镜552类似的或相同的多波段二向色镜(未示出)用于通过物镜554(图5C)照射样本,同时允许因而产生的发射在全部波长处穿过二向色镜552,除了多光束激励514(图5A)的那些波长以外。以这种方式,与单个波长一起使用的同一epi-配置实际上可以在有对分色镜552的适当的改变以及添加多个激光502、506、512以提供多波长激励的情况下被使用,同时维持单个激励系统的实质上所有探测波长。

[0183] 转到图5C,其示出根据本发明的一个实施方式的采用图5A的多波长激励以及图5B的分色滤光器的光学单元的部分550的示意性表示。部分550在一些情况下可取代子系统475(图4B)。

[0184] 表1示出了用在本发明中的代表性组件的代表性的值。

	激光波长	405nm	488nm
	激光功率	50mW	20mW
	感测光谱范围	200nm	200nm
	光谱分辨率	25nm	25nm
[0185]	探测器数量	8	8
	收集光学系统	显微镜物镜 N.A.>0.4, W.D. \approx 6mm	显微镜物镜 N.A.>0.4, W.D. \approx 6mm
	探测器类型	S.S. PMT 8 ch	S.S. PMT 8 ch

[0186] 虽然前面的讨论的大部分集中于本发明的一些实施方式的光学元件,但是据此提出的诊断系统的关键组件之一是一次性样本药筒。

[0187] 现参照图6,其是根据本发明的一个实施方式的图1或图2的系统的采样药筒650的示意图。药筒650包括预先分析组件652,样本(未示出)可被引入到其中。样本一般将是血液,其或者是全血或者是其组分(血清等)。另外地或可选地,可使用其它液体样本。在预先分析组件652中,样本被允许与预先打包到组件652中的化学物相互作用。该相互作用可以是被动的,或者包括主动混合。包含在分析组件652中的化学物可以是湿的或干的,并且通常包括与荧光探针相关联的抗体。针对抗体与预定的生物学标记或类似物结合的能力来预先选择抗体。在一个典型的实验中,预定容量(一般少于50微升)的血液被引入到一次性药筒650的预先分析组件652中。样本主动地与存在于预先分析组件652中的化学试剂混合一段预定的时间,一般少于十分钟。然后样本通过将讨论的手段穿过毛细管区域653移动,其中它被暴露于从物镜638传递的光束642。样本流动的方向由毛细管区域653中的箭头示出。

[0188] 毛细管区域653被设计成允许粒子以成单行的方式流动而经过光束642。这样的布置允许数粒子的数量以及单独地询问粒子,以确定在每个粒子上的生物学标记的存在(通过它们的相关荧光标记)。这样的物理布置允许探测每个粒子的一个或多个生物学标记(独立于粒子特定的特性,例如大小、形状和数量)。

[0189] 最后,有收集组件654,其接收在暴露于光束642之后的样本。这是废物区,且允许对样本准备、分析和废物收集的完全独立的一次性处理。要注意的是一次性药筒可以具有任何有关的形状,并且为了容易理解其组成和功能实际上在图6中示出。

[0190] 如上所提到的,样本在预先分析处理以允许荧光标签结合到细胞/粒子之后必须

在光束642下流动,光束642由光学单元(未示出)产生。流动一般是“成单行的”,以便允许在每个被分析的细胞上的细胞特定的标记的准确确定。引起流动的方法包括但不限于电刺激、化学感应和真空牵拉。在电刺激系统中,电荷被施加在整个毛细管区域653上,以便促使带电的粒子从预先分析组件652向收集组件654移动。电荷可以由放置有一次性药筒650的流式细胞仪供给或来自外部源。

[0191] 可选地,毛细管区域可包括化学特征(亲水/疏水的;正/负电荷)以促进样本从左向右移动,如图6所示。可选地,来自收集组件654的真空可被应用以从预先分析组件652拉样本而通过毛细管区域653。其它方法也可被采用以使液体样本在光束642下移动用于分析。

[0192] 如本文所述,光学器件以及样本处理已被分开地处理。这样的布置不是强制性的,因为合适的样本分析所需要的光学特征中的一些可包括在一次性药筒中。

[0193] 现参照图7,其示出根据本发明的一个实施方式的图1或图2的系统的一次性药筒750的一个可选的实施方式的示意图。光栅756包含在药筒750中。这样的布置可允许光学单元(未示出)的进一步的小型化和简化。

[0194] 现参照图8,其示出在流式细胞仪设备例如根据本发明的一个实施方式的系统100中的一次性药筒800的示意图。注意力现转向图8,其示出毛细管区域853的放大视图。在毛细管区域853中,粒子在由箭头880表明的方向上流动。粒子890流动而经过物镜838,物镜838发出穿过毛细管853的光842。流动限制元件894可存在于毛细管区域853中,以便促使粒子890以几乎成单行的方式移动而经过光842。多个粒子一起的通过可以通过处理软件来解决。

[0195] 粒子890上的分子标记895可被光842照射,且其荧光将被最接近的光电倍增管899捕获。光电倍增管899可辨别该荧光的波长,且因此辨别哪个生物学标记895存在于粒子890上。因此,本发明的系统可确定哪些生物学标记存在于粒子890上,哪些在本发明的系统中被检测到。光电倍增管899可具有用于精细的波长辨别的多个管或元件阵列,且可选地可以用薄膜、CCD或其它适当的光接收读出器单元替换。应理解,图8示出了在透射配置中的系统100(图1)的配置的一个实施方式,其中探测器(光电倍增管899)布置在药筒800的与物镜838的相对的一侧上。这与图1、图2、图4A和图4B中的设置是相反的。

[0196] 本发明的系统包括控制器软件,其适合于运行诊断过程。应理解,控制器软件可以是流式细胞仪的整体部分或者可选地安装在相关的计算设备(参见图1及图2)上,计算设备可以包括但不限于膝上型计算机、iPod、iPad、手机或大型计算机。

[0197] 现参照图9,其示出根据本发明的一个实施方式的来自图1或图2的系统的软件输出的示例性图。在图9中,示出了示例性屏幕截图900。特别地,图9中描述的软件允许控制流式细胞仪以及收集/显示输出数据。

[0198] 在一个实施方式中,屏幕截图900被分为三个区域。左上方区域905包括用于运行/停止/校准系统或流式细胞仪(100,图1)的控制。右上方区域906允许文件管理/存储。底部区域907涉及数据输出,数据按照荧光波长范围被划分,例如,如所示。

[0199] 现参照图10,其是根据本发明的一个实施方式的用于医学疾病的快速确定的方法的简化流程图1000。应理解,本文描述的方法描述了用于确定患者的健康状态的本发明的一个非限制性的实施方式。另外的实施方式也可被解释为本发明的部分。

[0200] 在体液供应步骤1002中,来自人或动物患者的体液例如血液、尿液、血清或血浆被提供。通常,样本是新鲜的,但也可以是存储的、冷藏的或冷冻-解冻的样本。流体通常是液体,且在4-37°C的温度下。

[0201] 在体液引入步骤1004中,体液样本151(图1B)的部分或全部被引入一次性药筒(图1B的150或图6的650或图7的750或图8的800)中。根据一些实施方式,流体样本被引入到体液吸取节段152(图1B)中。

[0202] 在反应步骤1006中,流体样本与药筒中的至少一种反应物发生反应,形成处理过的样本。根据一些实施方式,该步骤在上文中详细描述的先分析样本处理节段154(图1B)中执行。

[0203] 在照射步骤1008中,辐射照射到处理过的样本上,例如但不限于在样本激励/相互作用节段156中,从而在光学单元130的方向(图1,见上文的描述)上产生多个光谱上不同的信号。

[0204] 在光谱发射探测步骤1010中,多个光谱上不同的信号被多个发射探测器134(图1B)探测。探测器输出数据。

[0205] 此后,在数据处理步骤1012中,输出的数据由信号处理器136和/或由计算机110处理以提供指示医学疾病的输出。

[0206] 图11示出了三维曲线图,其示出根据本发明的一个实施方式的参考珠(RM)相对于来自人类患者(PMN)的样本的随时间的推移的光输出。在六个波段——500-525nm、525-550nm、550-575nm、575-600nm、600-625nm和625到650nm中的发射振幅对每个采样时间显示在曲线图中。不同的荧光团具有不同的发射光谱。可以认识到,对于使用吖啶橙(AO)着色的中性白细胞和包含明亮的宽光谱荧光团的参考珠(RM),在单独波长处的光谱含量或形状和振幅都是明显不同的。AO发射的峰值在525-550nm波段中,而RM的峰值在500-525nm波段中,而且具有比在任何波段内的AO明显更大的振幅。

[0207] 转到图12A-12C,可看到根据本发明的一个实施方式的参考珠和来自人类患者的样本随时间推移的光输出的曲线图。在这些二维图形中,来自波段的每一个的迹线在同一曲线图上重叠。图12A示出在图12B中的来自中性白细胞的母螺纹式脉冲(boxed pulse)。从这些曲线图中很清楚,在525-550nm通道中的振幅超过了在500-525nm通道中的振幅,这是AO的特性。图12C示出AO着色的中性白细胞发射光谱与RM发射光谱的比较。500-525nm波段中的光谱对525-550nm波段中的振幅的相对振幅明确区分出了两种荧光团。此外,RM发射的最大振幅明显大于AO的最大振幅。

[0208] 如在本文中描述和示出的本发明的系统提供使用,例如但不限于下列四种情况中的至少一个:

[0209] a)当多条信息例如生物学标记和白细胞状态被需要以便做出准确的诊断确定时;

[0210] b)当必须进行多个连续的测量以便确定患者在疾病曲线上的位置时;

[0211] c)当白细胞和类似的数据被快速需要以及在POC环境中时;

[0212] d)当荧光信号在波长上重叠,且对于给定波长范围需要确定每个信号的相对贡献时。

[0213] 本发明包括用于适当的数据分析和将原始荧光数据转换成相关的生物学标记的实际集中的软件和算法。

[0214] 根据一些实施方式,可使用其它合适的操作或操作集合。一些操作或操作集合可以例如实质上连续地重复预先定义的重复次数或直到满足一个或多个条件。在一些实施方式中,一些操作可以并行地、按顺序或按其它合适的执行顺序来执行。

[0215] 本文中使用的术语例如“处理”、“计算(computing)”、“计算(calculating)”、“确定”、“建立”、“分析”、“检查”或类似术语的讨论可以指计算机、计算平台、计算系统或其它电子计算设备的操作和/或过程,其操纵数据和/或将在计算机的寄存器和/或存储器内表示为物理(例如电子)量的数据变换成在计算机的寄存器和/或存储器或其它可以存储指令的存储介质中类似地表示为物理量的其它数据以执行操作和/或过程。

[0216] 一些实施方式可采取完全硬件体现、完全软件体现或包括硬件和软件元件的体现的形式。一些实施方式可以在软件中实现,软件包括但不限于固件、常驻软件、微代码或类似物。

[0217] 一些实施方式可以利用客户端/服务器体系结构、发行者/订阅者体系结构、完全集中式体系结构、部分集中式体系结构、全分布式体系结构、部分分布式体系结构、可伸缩的对等(P2P)体系结构或其它合适的体系结构或其组合。

[0218] 一些实施方式可采取可从计算机可用介质或计算机可读介质访问的计算机程序产品的形式,所述介质提供由计算机或任何指令执行系统使用或与计算机或任何指令执行系统结合来使用的程序代码。例如,计算机可用或计算机可读介质可以是或可包括可以包含、存储、传递、传播或传输由指令执行系统、装置或设备使用或与指令执行系统、装置或设备结合来使用的程序的任何装置。

[0219] 在一些实施方式中,介质可以是或可以包括电子、磁、光、电磁、红外(IR)或半导体系统(或装置或设备)或传播介质。计算机可读介质的一些示范性例子可包括半导体或固态存储器、磁带、可移动计算机软盘、随机存取存储器(RAM)、只读存储器(ROM)、硬磁盘、光盘或类似物。光盘的一些示范性例子包括光盘只读存储器(CD-ROM)、光盘读/写(CD-R/W)、DVD或类似物。

[0220] 在一些实施方式中,适合于存储和/或执行程序代码的数据处理系统可以包括直接或间接地例如通过系统总线耦合到存储器元件的至少一个处理器。存储器元件可包括例如在程序代码的实际执行期间使用的本地存储器、大容量存储器以及高速缓冲存储器,其可提供至少某些程序代码的临时存储,以便减少代码在执行过程中必须从大容量存储器中取回的次数。

[0221] 在一些实施方式中,输入/输出或I/O设备(包括但不限于键盘、显示器、指示设备,等等)可以或者直接地或者通过介于中间的I/O控制器耦合到系统。在一些实施方式中,网络适配器可以例如通过介于中间的私有或公共网络耦合到系统以使该数据处理系统能够变得耦合到其它数据处理系统或远程打印机或存储设备。在一些实施方式中,调制解调器、电缆调制解调器和以太网卡是网络适配器的类型的示范性例子。可以使用其它合适的组件。

[0222] 一些实施方式可以通过软件、通过硬件或通过可能适合于特定的应用或根据特定的设计要求的软件和/或硬件的任何组合来实现。一些实施方式可以包括单元和/或子单元,其可以是彼此分离的或全部或部分地组合在一起,而且可使用特定的、多用途或通用处理器或控制器来实现。一些实施方式可以包括缓冲器、寄存器、堆栈、存储单元和/或记忆单

元,用于数据的临时或长期存储或为了便于特定实现的操作。

[0223] 一些实施方式可以例如使用可存储指令或指令集的机器可读介质或产品来实现,所述指令如果由机器执行则使该机器执行本文描述的方法和/或操作。这样的机器可包括例如任何合适的处理平台、计算平台、计算设备、处理设备、电子设备、电子系统、计算系统、处理系统、计算机、处理器或类似物,并且可以使用硬件和/或软件的任何合适的组合来实现。机器可读介质或产品可包括例如任何合适类型的记忆单元、记忆设备、记忆产品、记忆介质、存储设备、存储产品、存储介质和/或存储单元;例如存储器、可移动或不可移动介质、可擦除或不可擦除介质、可写或可重写介质、数字或模拟介质、硬盘驱动器、软盘、光盘只读存储器(CD-ROM)、可刻录光盘(CD-R)、可重写光盘(CD-RW)、光磁盘、磁介质、各种类型的数字通用磁盘(DVD)、磁带、盒式磁带或类似物。指令可包括任何合适类型的代码,例如源代码、编译代码、解释代码、可执行代码、静态代码、动态代码或类似代码,并且可使用任何合适的高级、低级、面向对象、视觉、编译和/或解释编程语言例如C、C++、Java、BASIC、Pascal、Fortran、Cobol、汇编语言、机器代码或类似语言来实现。

[0224] 本文中参照一个或多个实施方式所描述的功能、操作、组件和/或特征可以与本文中参照一个或多个其它实施方式所描述的一个或多个其它功能、操作、组件和/或特征结合或可以与其结合使用,反之亦然。

[0225] 可使用一个或多个计算机可用或计算机可读介质的任何组合。计算机可用或计算机可读介质可以是例如但不限于电子、磁、光、电磁、红外或半导体系统、装置、设备或传播介质。计算机可读介质的更具体的例子(非详尽的列表)可包括下列项:具有一条或多条电线的电连接、便携式计算机软盘、硬盘、随机存取存储器(RAM)、只读存储器(ROM)、可擦除可编程只读存储器(EPROM或闪存)、光纤、便携式光盘只读存储器(CDROM)、光存储设备、传输介质例如支持因特网或内联网的传输介质、或磁存储设备。要注意的是,计算机可用或计算机可读介质甚至可以是纸或印刷有程序的另一合适的介质,因为程序可以通过电子手段捕获,例如通过纸或其它介质的光学扫描,然后如果必要则被编译、解释或另外以其它合适的方式处理,然后存储在计算机存储器中。在本文件的上下文中,计算机可用或计算机可读介质可以是可包含、存储、传递、传播或传输由指令执行系统、装置或设备使用或与指令执行系统、装置或设备结合来使用的程序的任何介质。计算机可用介质可包括所传播的数据信号,该信号具有在基带中或作为载波的部分以此体现的计算机可用程序代码。计算机可用程序代码可使用任何适当的介质——包括但不限于无线、有线线路、光纤电缆、RF,等——来传输。

[0226] 用于执行本发明的操作的计算机程序代码可使用一种或多种编程语言——包括面向对象的编程语言例如Java、Smalltalk、C++或类似语言以及传统的过程编程语言例如“C”编程语言或类似的编程语言——的任何组合来编写。程序代码可完全在用户的计算机上、部分地在用户的计算机上、作为独立的软件包、部分地在用户的计算机上及部分地在远程计算机上或完全在远程计算机或服务器上执行。在后一种情形中,远程计算机可通过任何类型的网络——包括本地局域网(LAN)或广域网(WAN)——连接到用户的计算机,或者可以连接到外部计算机(例如,通过使用互联网服务提供商的互联网)。

[0227] 在本文中参照根据本发明的实施方式的方法、装置(系统)和计算机程序产品的流程图图示和/或框图描述了本发明。将理解,流程图图示和/或框图的每个方框以及流程图

图示和/或框图中的方框的组合可通过计算机程序指令实现。这些计算机程序指令可被提供给通用计算机、专用计算机或其它可编程数据处理装置的处理器以生产机器,使得经由计算机或其它可编程数据处理装置的处理器执行的指令创建用于实现在流程图和/或框图的一个或多个方框中指定的功能/行动的装置。

[0228] 这些计算机程序指令也可存储在计算机可读介质中,其可以指示计算机或其它可编程数据处理装置以特定的方式运行,使得存储在计算机可读介质中的指令产生包括指令装置的制造产品,指令装置实现在流程图和/或框图的一个或多个方框中指定的功能/行动。

[0229] 计算机程序指令也可被装入计算机或其它可编程数据处理装置上,以使一系列的操作步骤在计算机或其它可编程装置上执行,以产生计算机实现的过程,使得在计算机或其它可编程装置上执行的指令提供用于实现在流程图和/或框图的一个或多个方框中指定的功能/行动的过程。

[0230] 附图中的流程图和框图示出根据本发明的多种实施方式的系统、方法和计算机程序产品的可能的实现的体系结构、功能和操作。在这方面,流程图或框图中的每个方框可以代表代码的模块、段或部分,其包括用于实现特定逻辑功能的一条或多条可执行指令。还应注意,在一些可选的实现中,方框中指出的功能可以不按在附图中指出的顺序出现。例如,实际上,连续示出的两个方框可以实质上同时执行,或者方框有时可以按相反的顺序执行,取决于所涉及的功能。还将注意,框图和/或流程图图示的每个方框及框图和/或流程图图示中的方框的组合可以通过执行指定的功能或行动的专用基于硬件的系统或专用硬件和计算机指令的组合来实现。

[0231] 虽然上面描述的实施方式主要处理评估随后在适当的处理器上执行的软件代码的测试覆盖,但是本文描述的方法和系统也可用于评估固件代码的测试覆盖。固件代码可以用任何适当的语言例如用C编写。在本专利申请的上下文中以及在权利要求中,这样的代码也被认为是一种软件代码。

[0232] 本领域技术人员应理解,本发明不限于上文中已具体示出和描述的内容。相反,本发明的范围由所附的权利要求限定,并且包括上文所述的各种特征的组合和子组合及本领域技术人员在阅读上述描述时将想到的变化和修改。因此,本发明旨在包括落在所附的权利要求的范围内的所有这样的替换、修改和变化以及落入本发明的精神内的所有这样的权利要求。

[0233] 本文中引用的参考文献教导了适用于本发明的许多原理。因此,这些出版物的全部内容适合于教导另外的或可选的细节、特征和/或技术背景的场所通过引用被并入本文。

[0234] 应理解,本发明在其应用中不限于在本文包含的描述中阐述的或在附图中示出的细节。本发明能够有其它实施方式,以及能够以各种方式被实践和执行。本领域中的技术人员将很容易认识到,各种修改和变化可应用于如在上文描述的本发明的实施方式,而不偏离在所附权利要求中限定和由所附权利要求限定的本发明的范围。

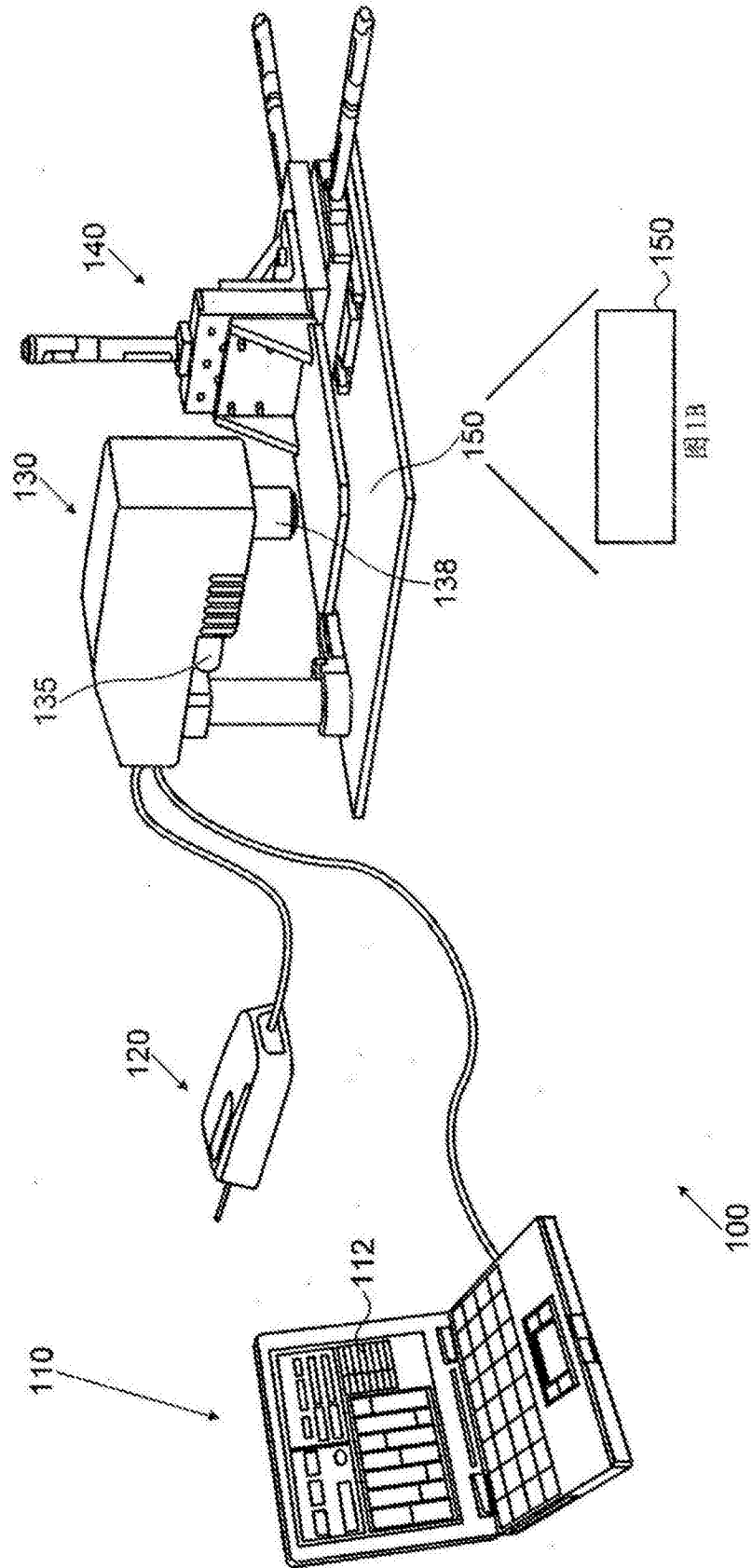


图1A

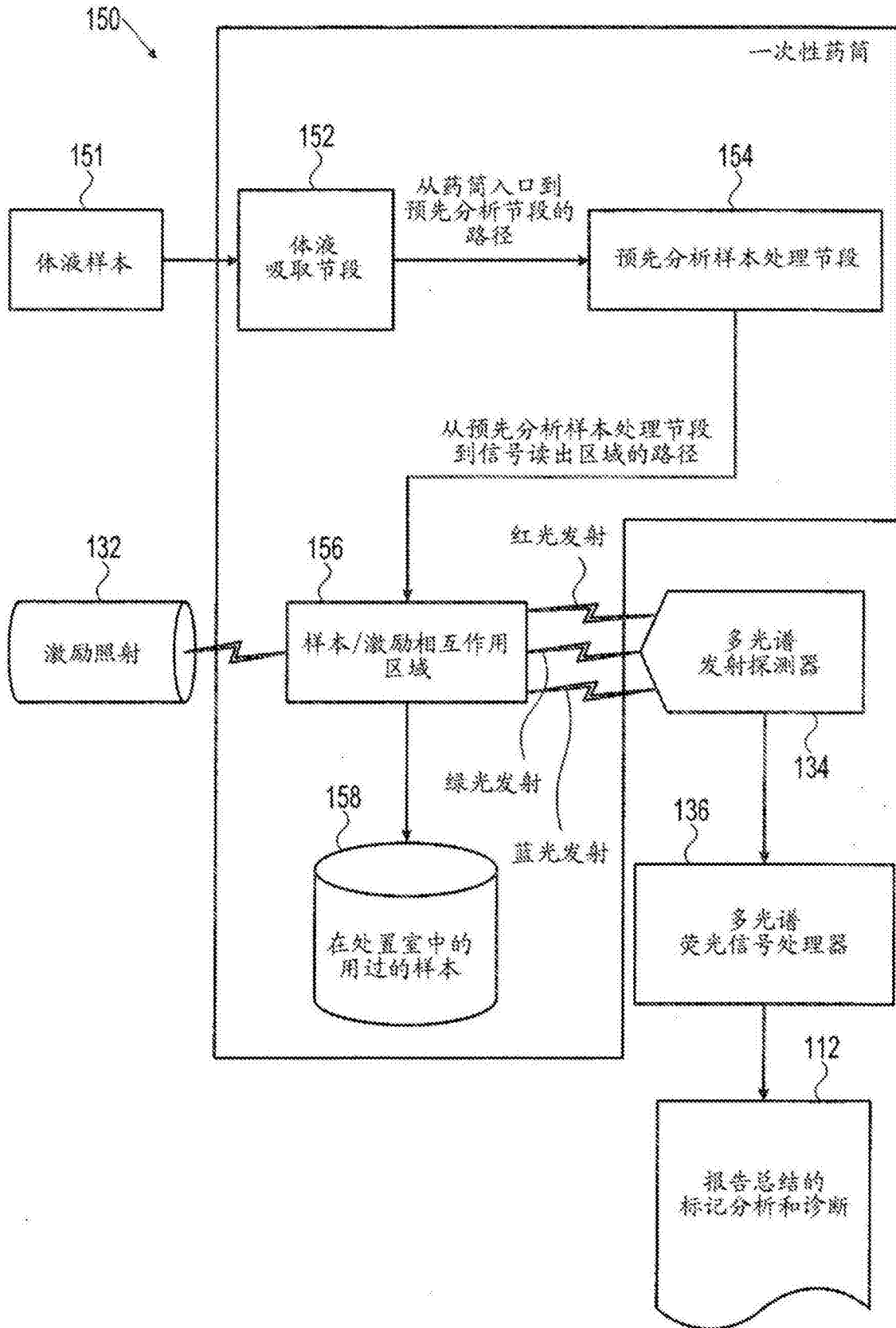


图1B

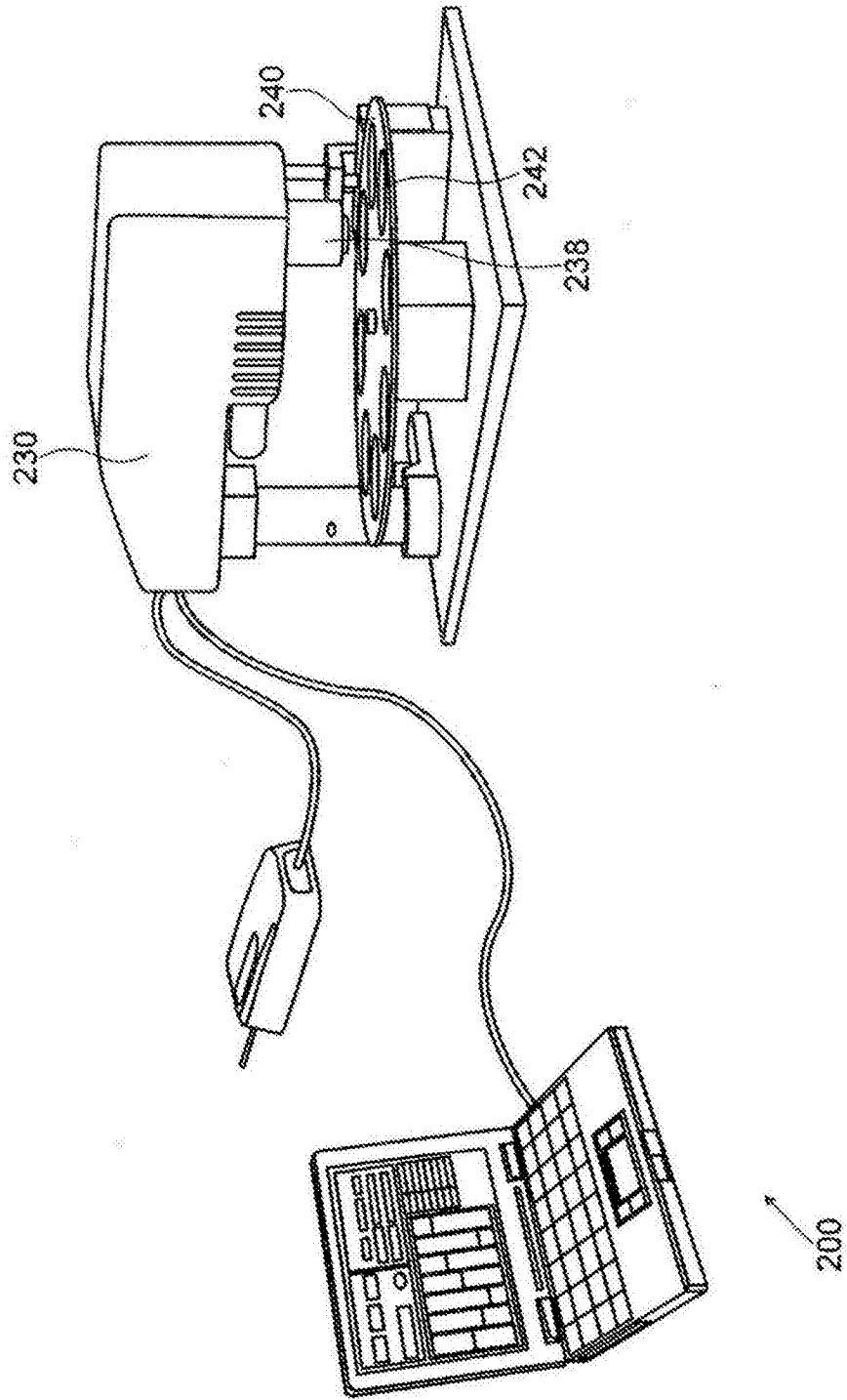


图2

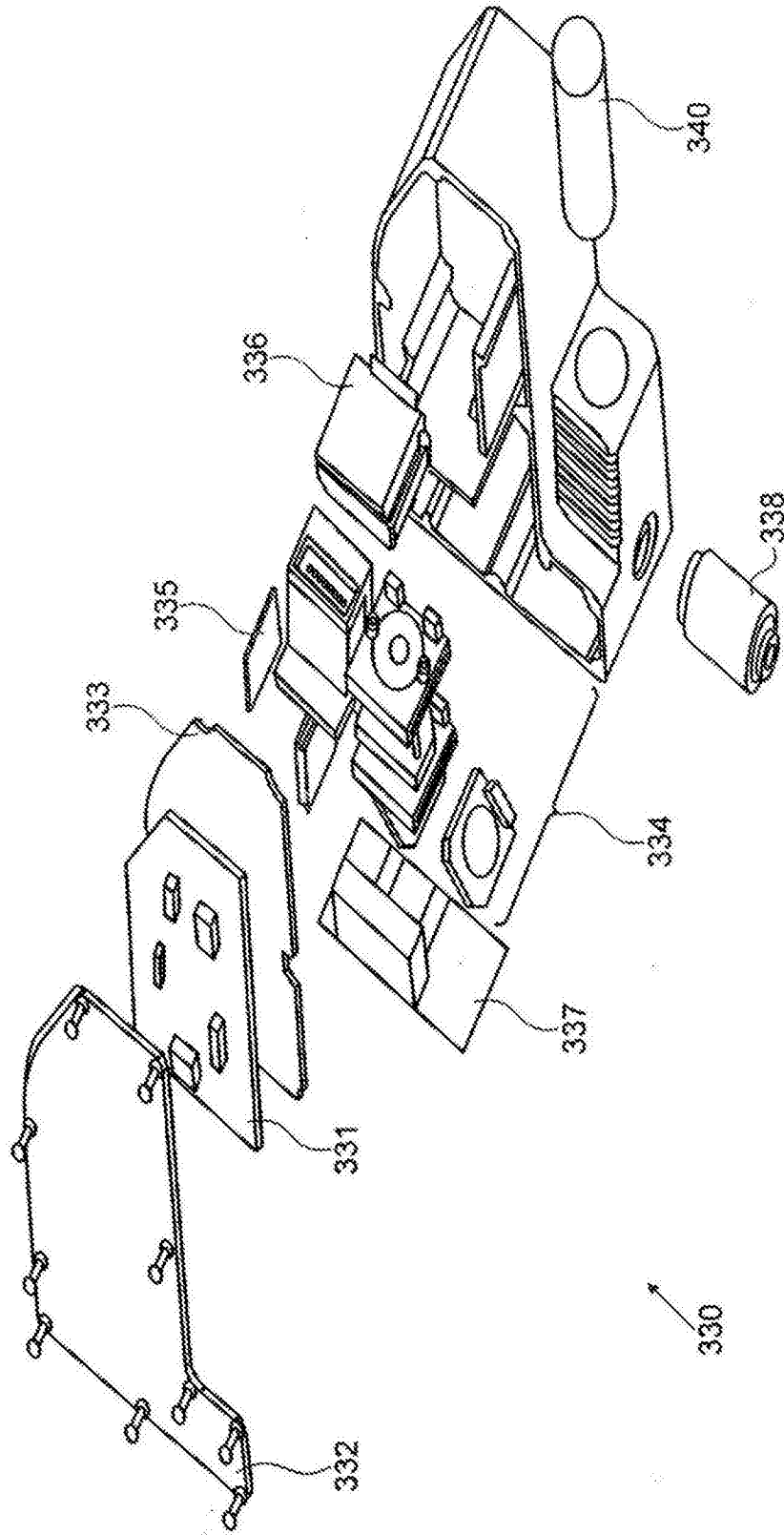


图3

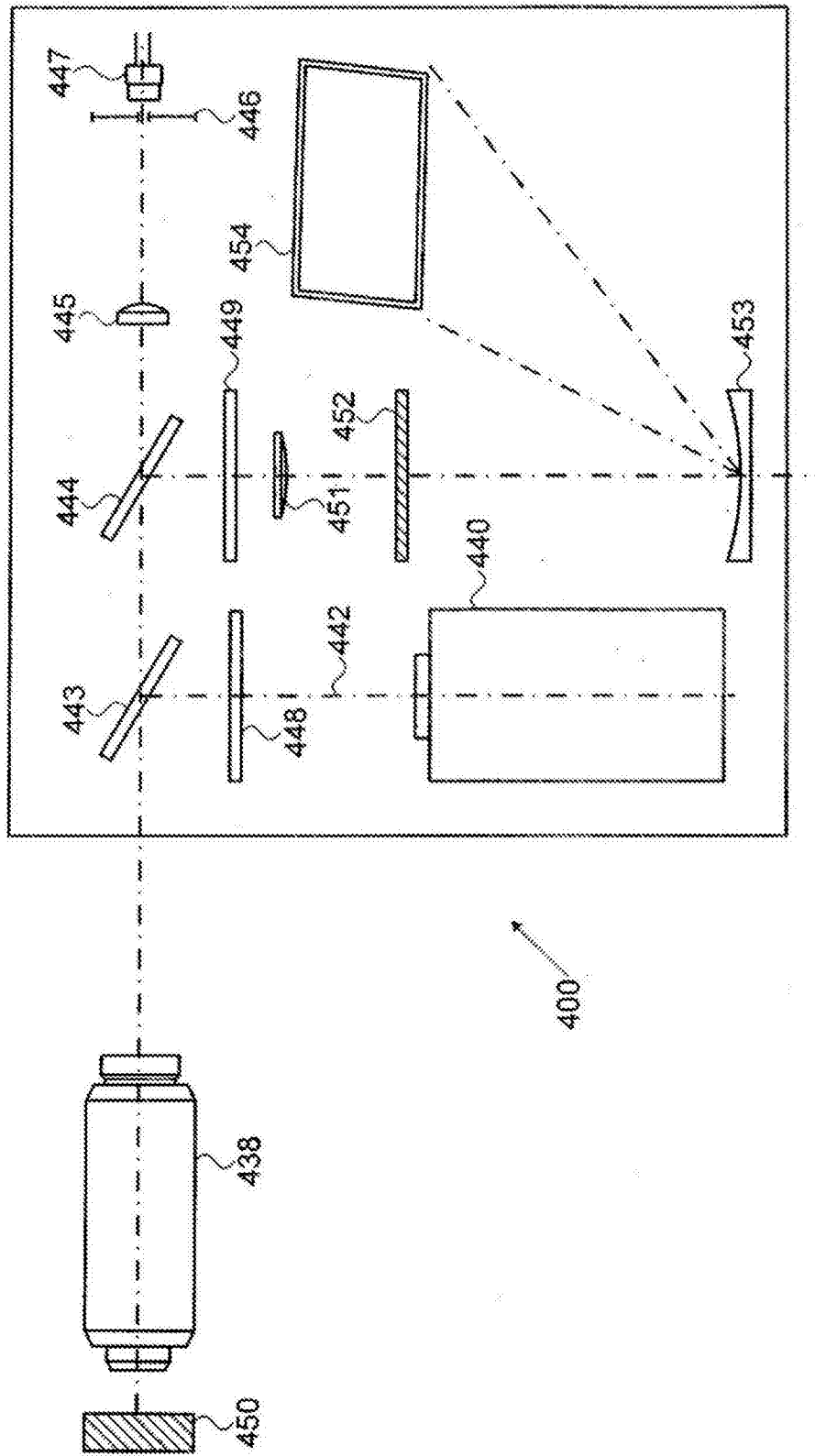


图4A

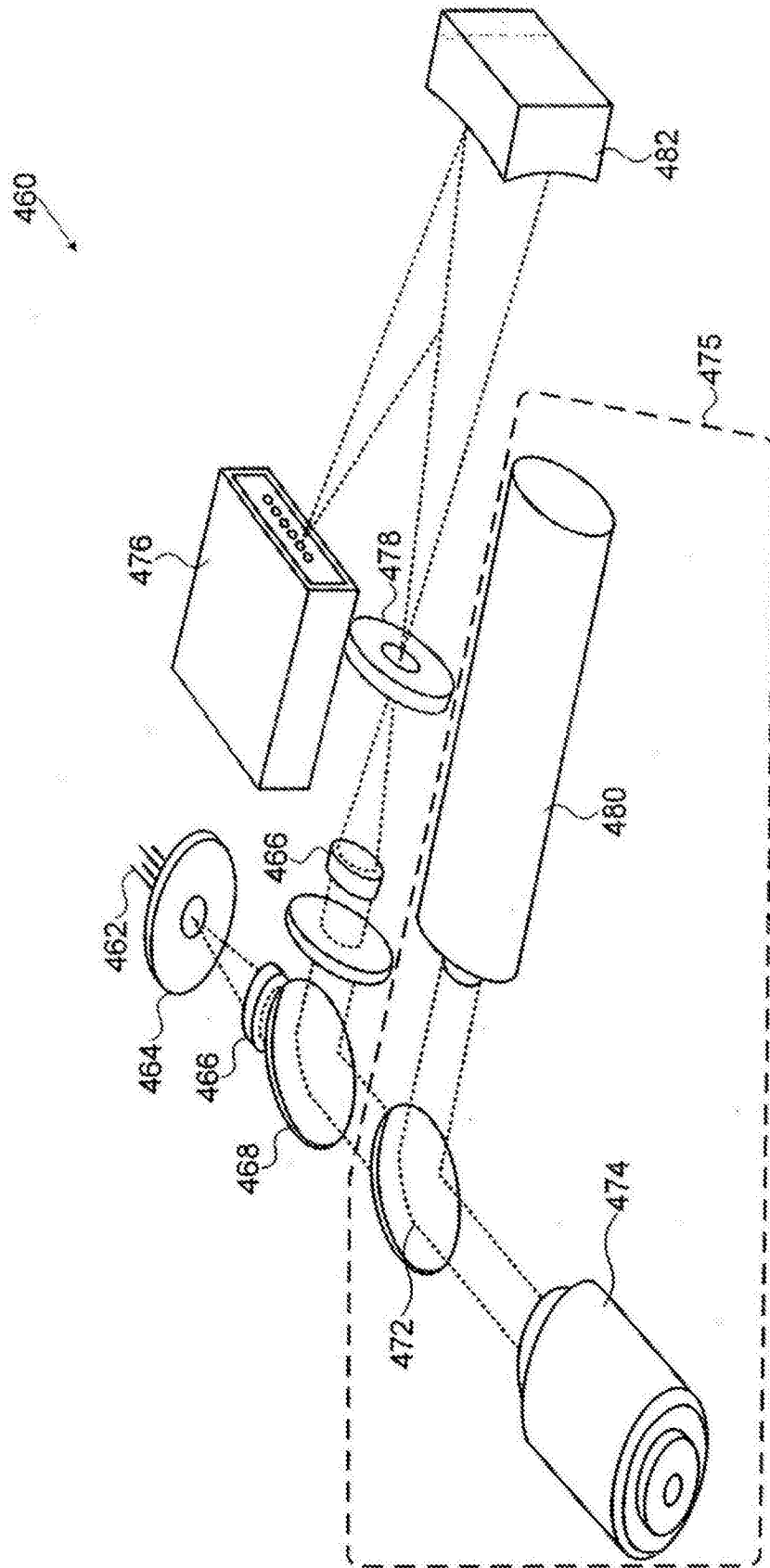


图4B

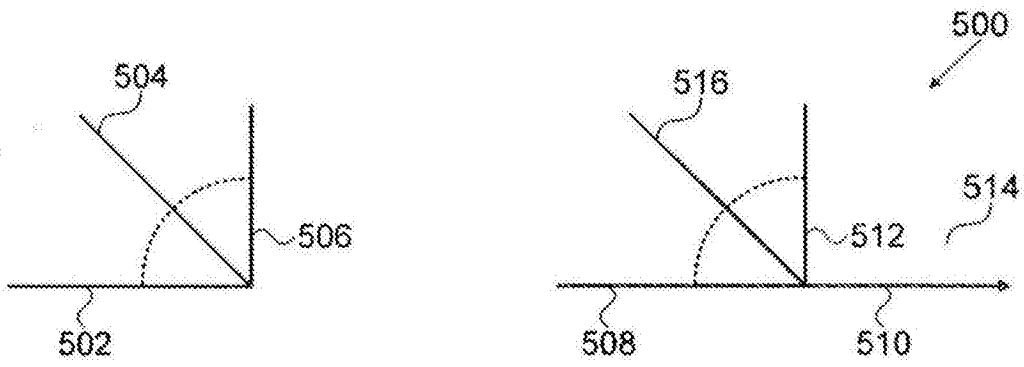


图5A

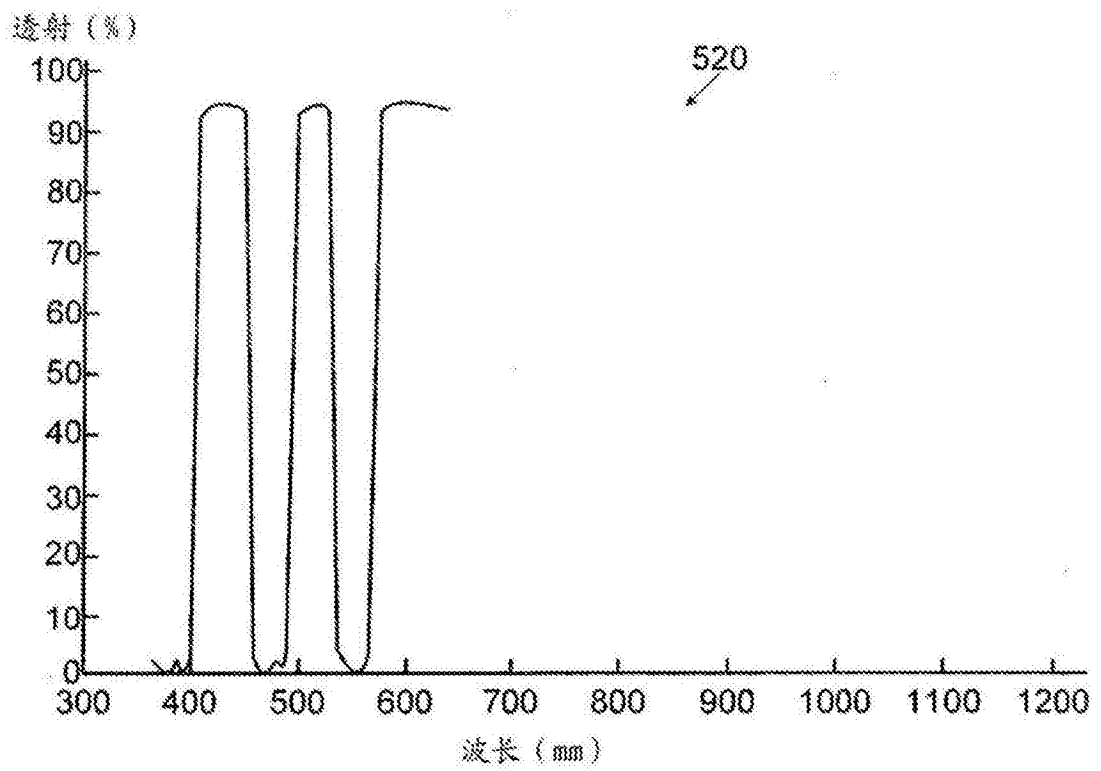


图5B

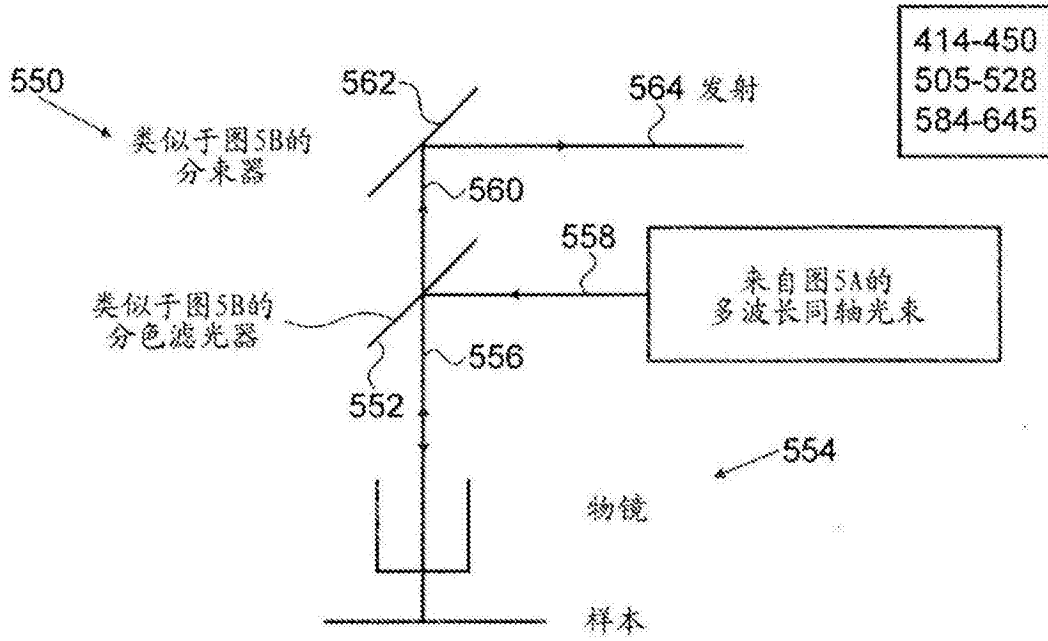


图5C

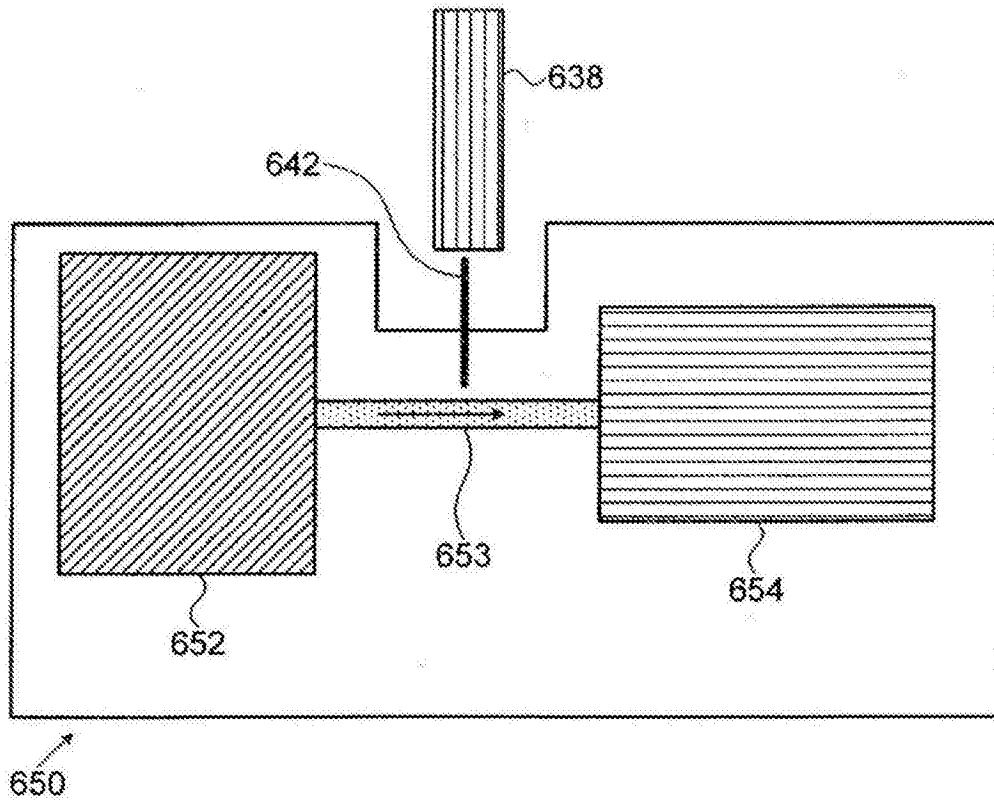


图6

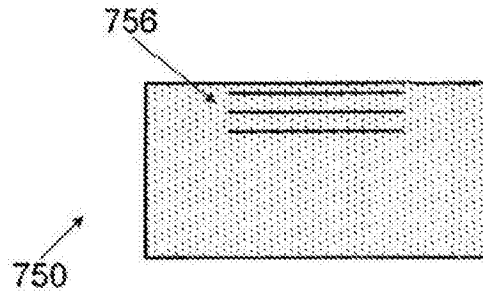


图7

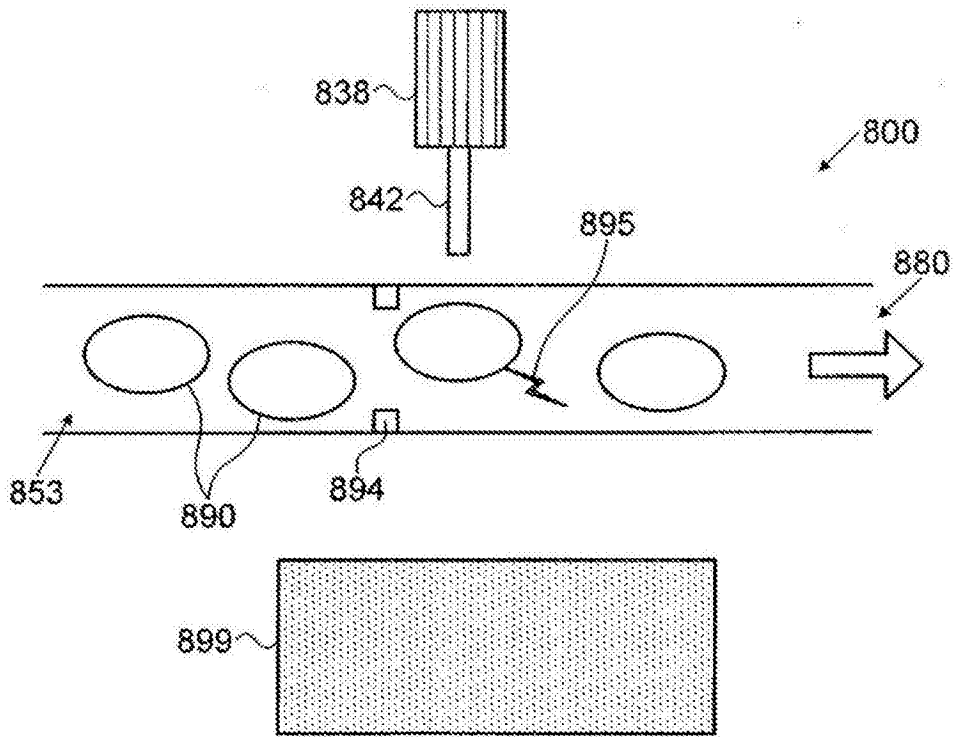


图8

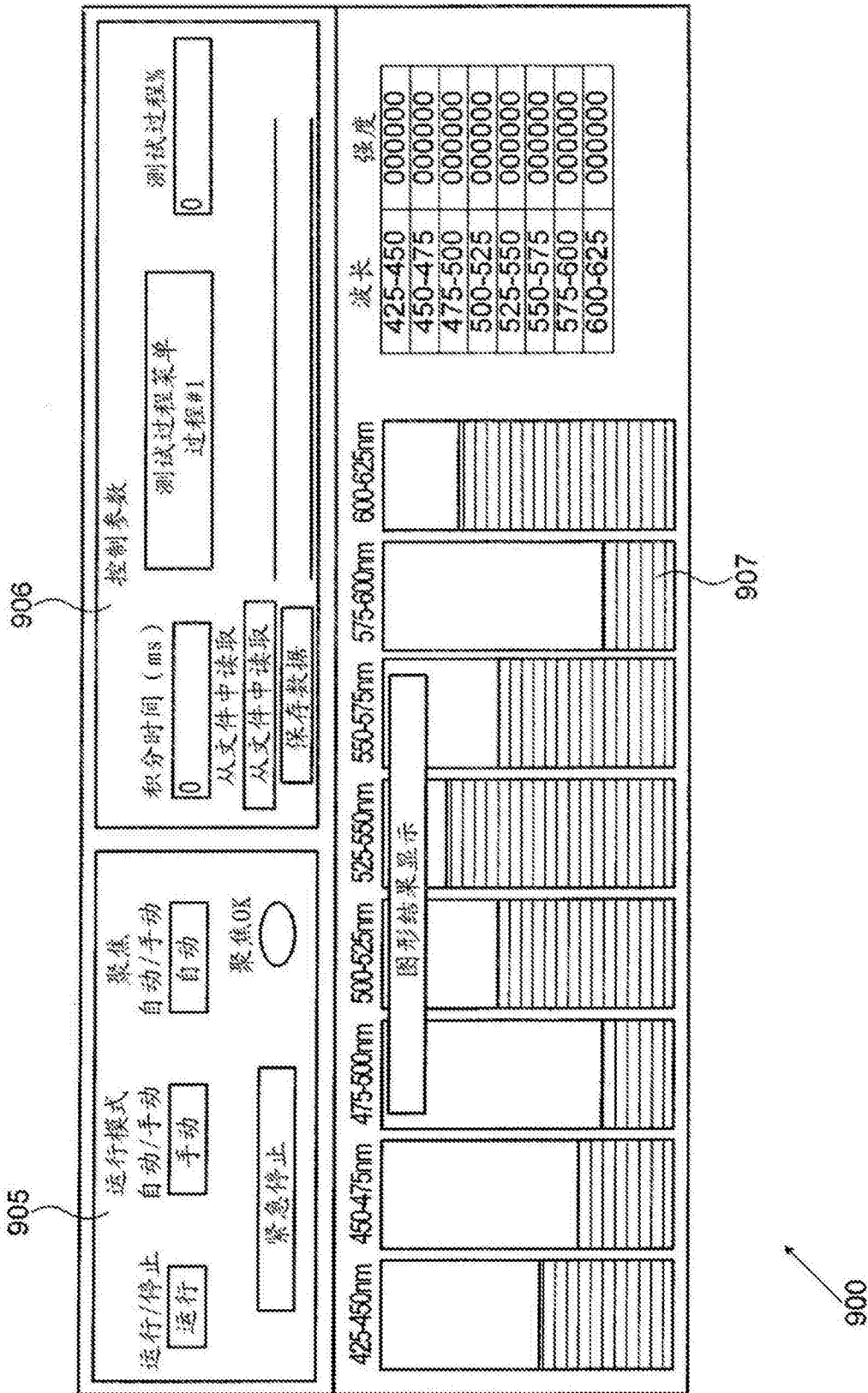


图9

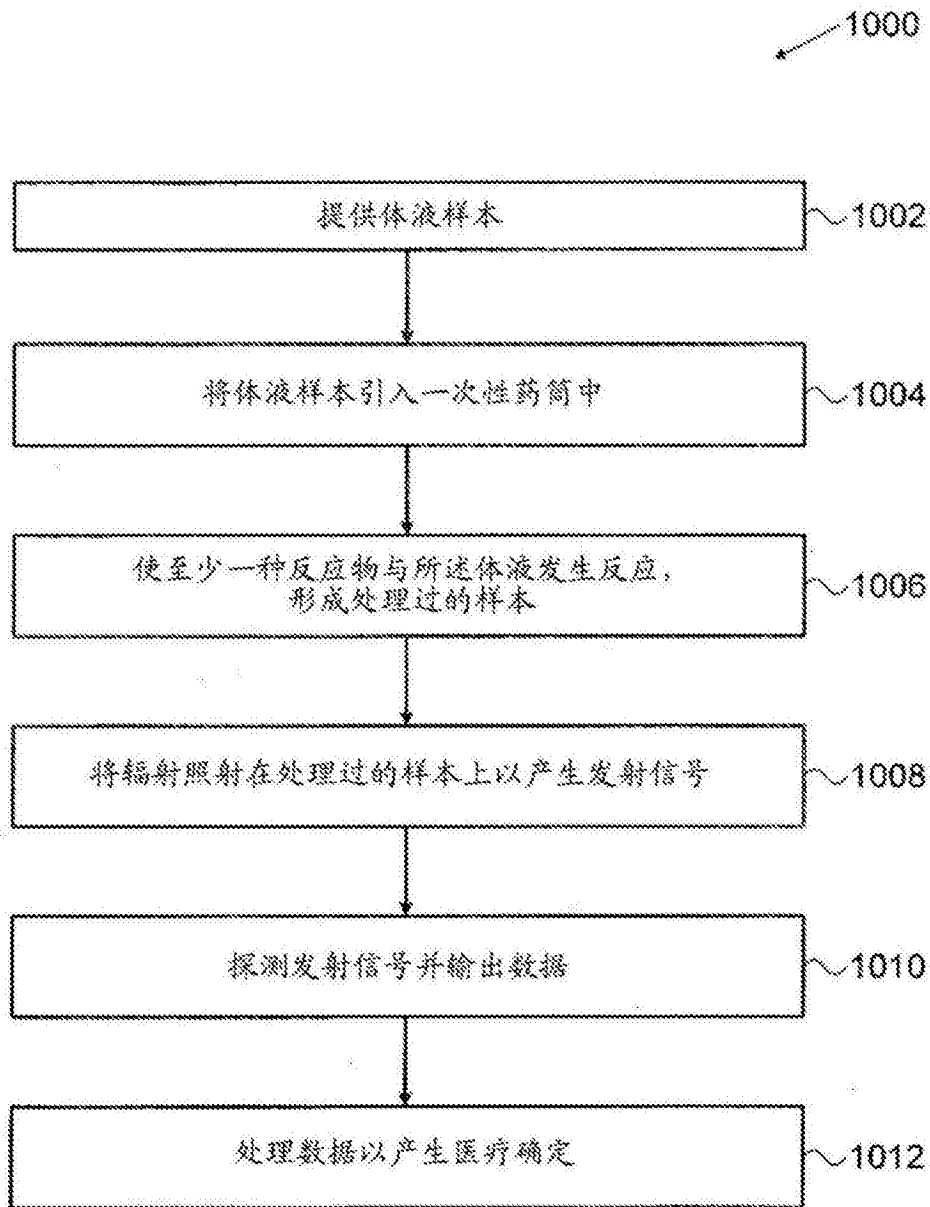


图10

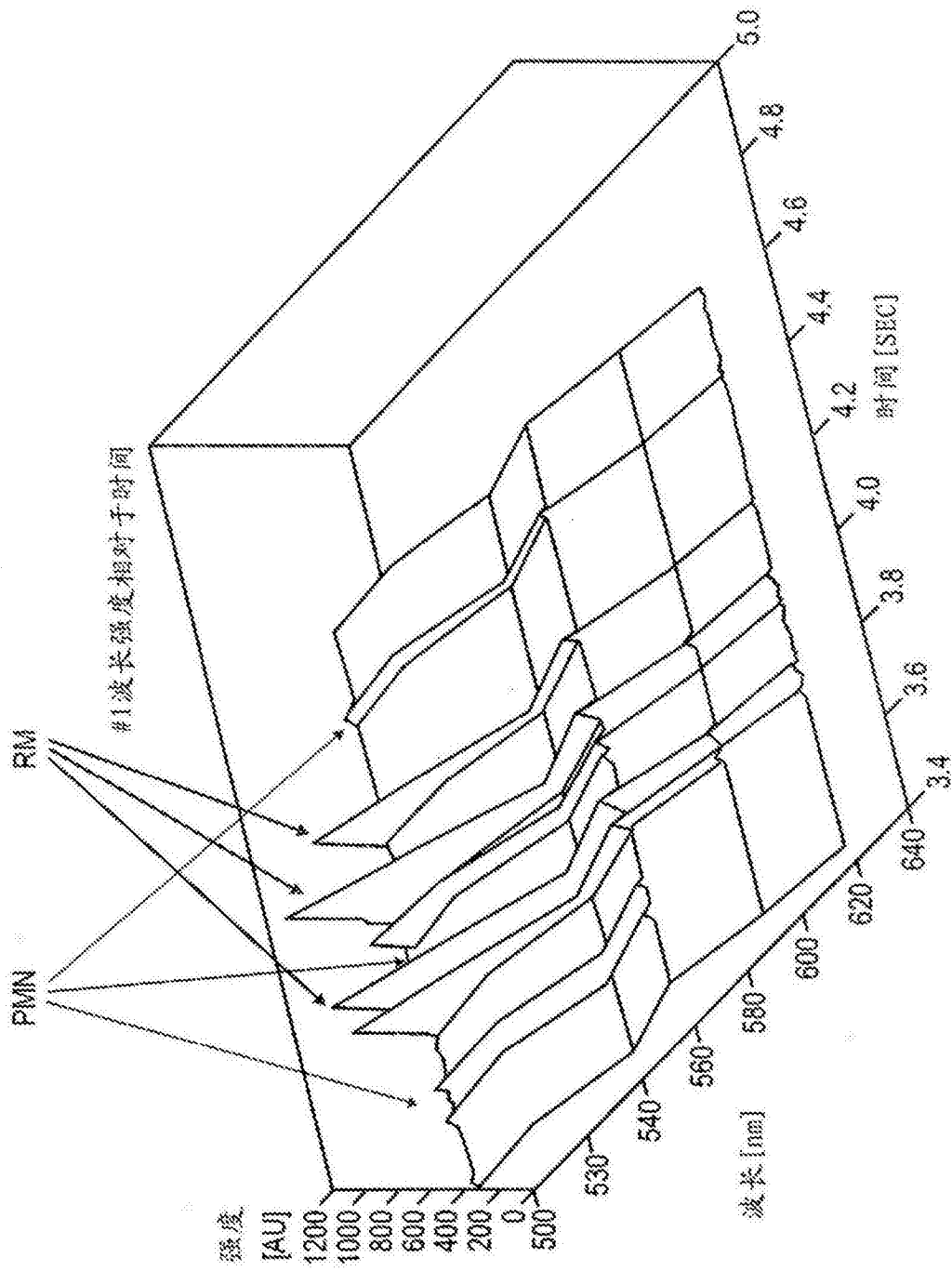


图11

PMN脉冲形状:

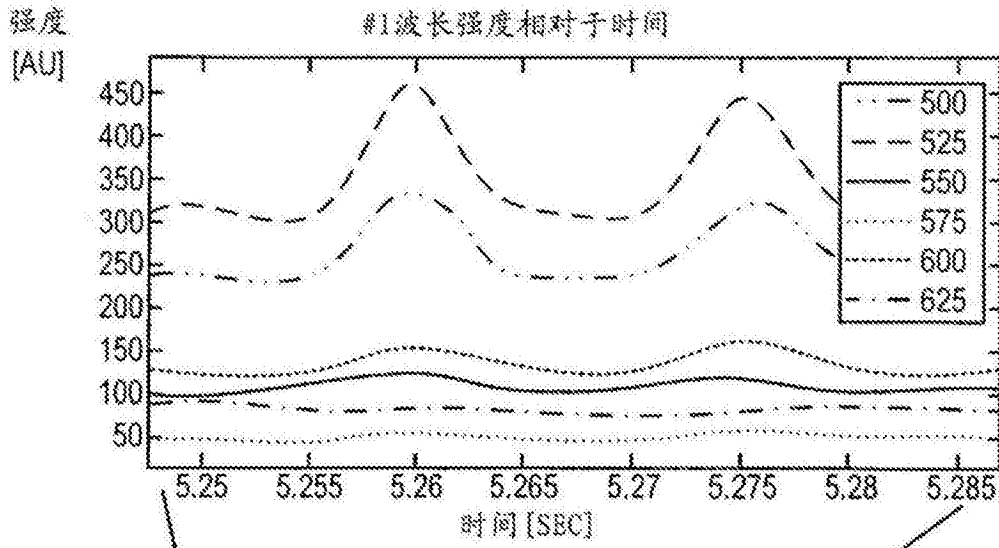


图 12A

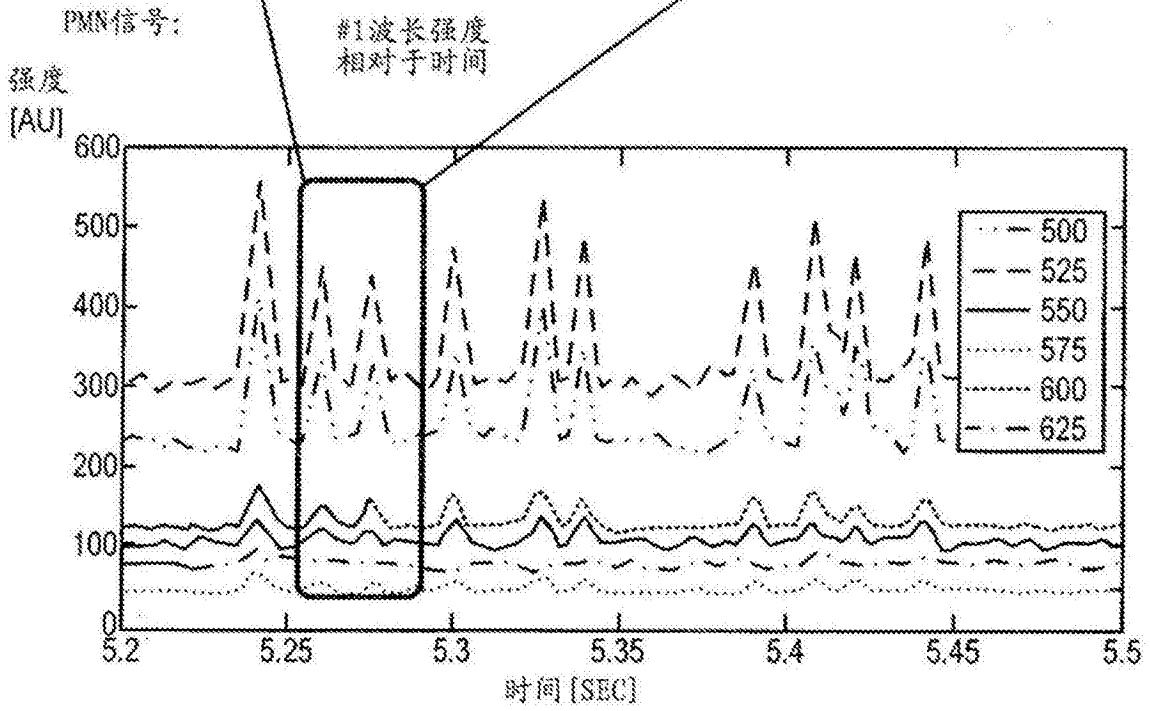


图 12B

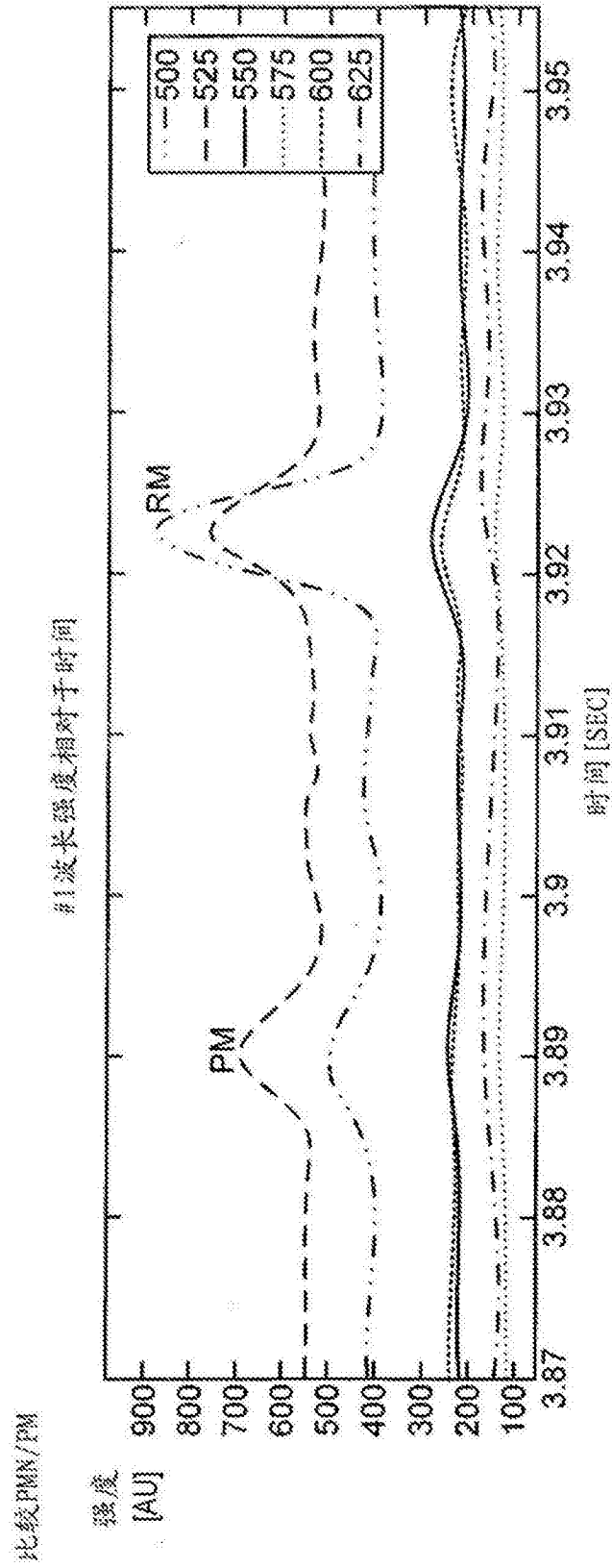


图12C