

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102216954 A

(43) 申请公布日 2011. 10. 12

(21) 申请号 200980102032. X

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2009. 01. 16

G06T 7/00(2006. 01)

(30) 优先权数据

G01N 15/06(2006. 01)

0800117. 4 2008. 01. 18 SE

G01N 21/84(2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

G01N 33/487(2006. 01)

2010. 07. 12

G01N 33/49(2006. 01)

G01N 33/493(2006. 01)

(86) PCT申请的申请数据

PCT/SE2009/000015 2009. 01. 16

(87) PCT申请的公布数据

W02009/091318 EN 2009. 07. 23

(71) 申请人 海默库伊公司

地址 瑞典恩厄尔霍尔姆

(72) 发明人 斯特兰·林德博格 汤姆·奥勒森

马丁·沃尔维克

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限

责任公司 11219

代理人 关兆辉 谢丽娜

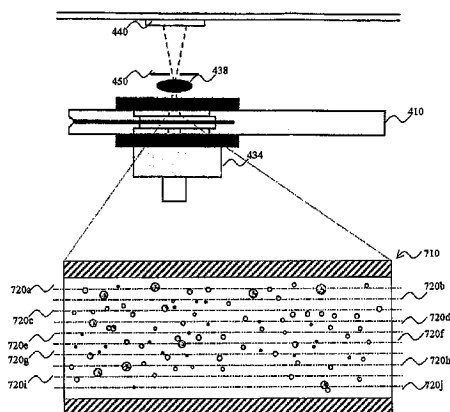
权利要求书 3 页 说明书 7 页 附图 2 页

(54) 发明名称

用于分析液体样本中的微粒的方法和装置

(57) 摘要

本发明涉及用于分析液体样本中的微粒的方法, 该样本保持在样本保持设备中, 该方法包括: 通过图像采集设备, 在样本保持设备内不同焦平面处采集所述样本的多个图像; 以及通过图像分析器, 分析所述图像, 用于识别, 如果有的话, 在每一个图像中, 样本的哪些微粒被对焦成像, 以及分析已经被识别为对焦成像的那些微粒, 其中, 在不同的、基本上平行的焦平面处采集所述多个图像, 所述平面彼此分开一距离, 所述距离小于 10 微米。本发明还涉及适用于本发明方法的装置。



1. 一种用于分析液体样本中的微粒的方法,该样本保持在样本保持设备中,该方法包括:

通过图像采集设备,在所述样本保持设备内不同焦平面处采集所述样本的多个图像;
以及

通过图像分析器,分析所述各图像,用于识别在所分析的图像的任何图像中对焦成像的样本的微粒,以及用于对每一个所识别的微粒,识别在所分析的图像中的哪一个图像中识别出所述微粒,以及使用各自的图像分析那些微粒,其中那些微粒在所分析的图像的任何图像中已经被识别为对焦成像,而在所述各自的图像中各自的微粒已经被识别为对焦成像;

其中,在不同的、基本上平行的各焦平面处采集所述多个图像,所述各平面彼此分开一距离,所述距离小于 10 微米;

其中,对每一微粒,通过如下步骤来实现对所对焦成像的微粒的所述识别:

找到可辨别所述微粒的图像;

确定由该微粒占据的图像的区域与无微粒可辨别的该图像的区域之间的光强的最大差值;

确定可辨别出相同微粒的其他图像中的光强的相应差值;以及

识别光强差值最高的图像;

由此将所述微粒视为在该识别的图像中被对焦。

2. 一种用于分析液体样本中的微粒的方法,所述样本保持在样本保持设备中,所述方法包括:

通过图像采集设备,在所述样本保持设备内不同焦平面处采集所述样本的多个图像;
以及

通过图像分析器,分析所述各图像,用于识别在所分析的图像的任何图像中对焦成像的样本的微粒,以及用于对所识别的每一个微粒,识别在所述分析的图像的哪一个图像中识别出所述微粒,以及使用各自的图像分析那些微粒,其中那些微粒已经在所分析的图像的任何图像中被识别为对焦成像,而在各自的图像中各自的微粒已经被识别为对焦成像;

其中,在不同的、基本上平行的焦平面处采集所述多个图像,所述各平面彼此分开一距离,所述距离小于 10 微米;

其中,对每一微粒,通过如下步骤实现对所对焦成像的微粒的所述识别:

找到可辨别所述微粒的图像;

限定所找到的图像的区域,所述区域包括所述微粒及其最近的围绕物;

确定所限定区域的像素方差;

确定可辨别出相同微粒的其他图像的相应区域的像素方差;以及

识别像素方差最高的图像;

由此将所述微粒视为在该识别的图像中被对焦。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的方法,其中,所述距离小于 5 微米,优选小于 2 微米。

4. 如上述权利要求的任何一个所述的方法,其中,所述方法进一步包括叠加所述多个图像,由此获得了包含在不同焦平面中对焦成像的所有微粒的叠加图像。

5. 如上述权利要求的任何一个所述的方法,其中,每一焦平面仅采集一个图像。
6. 如上述权利要求的任何一个所述的方法,其中,采集至少 10 个,优选至少 100 个,以及更优选至少 200 个图像。
7. 如上述权利要求的任何一个所述的方法,其中,将样本保持设备配置成呈现用于成像的液体样本,以便样本具有至少 100 微米,优选至少 200 微米,更优选至少 500 微米的、垂直于所述焦平面的深度。
8. 如上述权利要求的任何一个所述的方法,其中,将样本保持设备配置成呈现用于成像的液体样本,以便样本具有 1 毫米或更小的、垂直于所述焦平面的深度。
9. 如上述权利要求的任何一个所述的方法,其中,所述液体样本是生物样本。
10. 如上述权利要求的任何一个所述的方法,其中,所述液体样本是血液样本。
11. 如上述权利要求的任何一个所述的方法,其中,所述微粒是真核细胞,优选是哺乳动物细胞,更优选是人体细胞。
12. 如权利要求 1-10 的任何一个所述的方法,其中,所述微粒是细菌、病毒或血小板。
13. 如权利要求 1-10 的任何一个所述的方法,其中,所述微粒具有小于 20 微米,优选小于 10 微米,更优选小于 2 微米的最大直径。
14. 如上述权利要求的任何一个所述的方法,其中,分析已经识别为对焦成像的那些微粒包括:确定微粒的类型和数量,所述类型由微粒的物理特征来区分,由此确定样本中的不同类型的微粒的比率。
15. 如上述权利要求的任何一个所述的方法,其中,在采集图像前,已经通过染色剂染色了待分析的微粒。
16. 如权利要求 15 所述的方法,其中,在样本保持设备内,液体样本与染色剂接触,染色剂采用干燥的形式,由此在样本中溶解染色剂。
17. 如权利要求 15 或 16 所述的方法,其中,所述染色剂是荧光染色剂。
18. 如上述权利要求的任何一个所述的方法,其中,所述图像采集设备是数码相机。
19. 如上述权利要求的任何一个所述的方法,其中,通过图像采集设备采集的图像是对液体样本的放大而采集的,所述放大通过光折射器诸如透镜来实现。
20. 如上述权利要求的任何一个所述的方法,其中,通过将样本的成像面积与由多个图像所覆盖的样本的深度相乘,来定义样本的成像容积。
21. 一种测量装置,用于分析液体样本中的微粒,该装置包括:图像采集设备,图像分析器,配置成固定保持液体样本的样本保持设备的固定器,以及置于所述图像采集设备和所述固定器之间的光折射器;
其中,当所述样本保持设备由所述固定器固定时,可在样本保持设备内逐步移动焦平面,由此所述图像采集设备适于在样本保持设备内的不同焦平面处采集所述样本的多个图像,所述不同焦平面基本上彼此平行、以及彼此分开一距离,所述距离小于 10 微米;
其中,配置所述图像分析器来分析至少一个采集的图像,用于识别哪些微粒被对焦成像,以及分析已经被识别为对焦成像的那些微粒;
其中,对每一微粒,通过如下步骤实现对所对焦成像的微粒的所述识别:
找到可辨别所述微粒的图像;
确定由该微粒占据的图像的区域与无微粒可辨别的该图像的区域之间的光强的最大

差值；

确定可辨别出相同微粒的其他图像中的光强的相应差值；以及

识别光强的差值最高的图像；

由此将所述微粒视为在该识别的图像中被对焦。

22. 一种测量装置,用于分析液体样本中的微粒,该装置包括:图像采集设备,图像分析器,配置成固定保持液体样本的样本保持设备的固定器,以及置于所述图像采集设备和所述固定器之间的光折射器;

其中,当所述样本保持设备由所述固定器固定时,可在样本保持设备内逐步移动焦平面,由此所述图像采集设备适于在样本保持设备内的不同焦平面处采集所述样本的多个图像,所述不同焦平面基本上彼此平行、并彼此分开一距离,所述距离小于 10 微米;

其中,配置所述图像分析器来分析至少一个采集的图像,用于识别哪些微粒被对焦成像,以及分析已经识别为对焦成像的那些微粒;

其中,对每一微粒,通过如下步骤来实现对所对焦成像的微粒的所述识别:

找到可辨别微粒的图像;

限定所找到的图像的区域,所述区域包括所述微粒及其最近的围绕物;

确定所限定区域的像素方差;

确定可辨别相同微粒的其他图像的相应区域的像素方差;以及

识别像素方差最高的图像;

由此将所述微粒视为在该识别的图像中被对焦。

23. 如权利要求 21 或 22 所述的装置,其中,所述距离小于 5 微米,优选小于 2 微米。

用于分析液体样本中的微粒的方法和装置

技术领域

[0001] 本发明涉及用于对保持在样本保持设备中的液体样本中的微粒进行图像分析的方法和装置。

背景技术

[0002] 分析液体样本中的微粒,例如确定微粒的浓度和类型,在许多不同的工业领域诸如农业、医药等等中非常重要。

[0003] 研究液体样本中的微粒的传统方法是利用视觉,且很可能借助于显微镜,如果微粒小的话。通常通过用显微镜观察专用计数室诸如 Bürker 室中的样本,通过手动过程获得微粒浓度。计数室具有以明确界定的小的容积划分该室的格栅。可以使得微粒沉淀在计数室的底部以便允许显微镜聚焦在该室中的所有微粒上,由此便于计数。因此,在可能执行计数前,样本需要沉淀几分钟。然后,通过计数格栅中的每一盒的微粒的数量,确定微粒计数。由需要在执行分析方面富有经验的分析员来手动地获得微粒计数,以便能执行可靠的分析。

[0004] 该分析耗时。此外,由于手动地执行,因此,分析结果可能随执行分析的人员不同而改变。因为计数相对少的微粒以及现有的计数室的容积通常也不精确,因此,分析也是不精确的。

[0005] 存在一些现有的自动分析方法,用于确定液体样本中的微粒浓度。可能通过基于感知阻抗的 Coulter 原理,确定微粒浓度和大小,特别是用于生物微粒诸如细胞的微粒浓度和大小。在 US 5,262,302 中描述过用于通过 Coulter 原理计数白细胞的方法。根据 Coulter 原理的测量装置昂贵,因此,是相当大的投资。由此,医院或实验室将不愿投资于一个以上的装置。这意味着分析将需要在集中的地点执行以及病人将需要等待分析结果。

[0006] 在 W098/50777 中,公开了用于估算牛奶中的体细胞的数量方法。该方法包括在样本隔室中施加一定容积的样本,以及将从样本隔室通过的电磁信号传送到检测元件阵列上。处理所检测到的电磁信号的强度以及将结果与样本中存在的细胞的数量关联。

[0007] 国际申请 W0 2008/010761 公开了用于样本中的微粒的计数和分类的装置和方法。该方法包括下述步骤:获得样本的至少一个放大的数字图像;识别图像中对焦成像的微粒;以及确定这些微粒的类型和数量。当动物细胞是微粒时,使用由细胞质和细胞膜充当透镜所导致的细胞边缘处的光学现象,来识别对哪些细胞进行了焦点对准的(对焦)成像。还公开了可以在样本中的不同焦平面处获得图像。然而,未提及这些焦平面应当离开多远。

[0008] 还期望加速和简化用于对液体样本诸如生物样本中的微粒进行分析的现有的自动方法。提供快速、简单和相对廉价的分析方法以便在护理场所(at a point of care)提供分析是特别有利的。

发明内容

[0009] 本发明的目的是提供一种简单的分析,使能确定样本中的微粒的容积计数以及识

别不同的微粒,所述样本诸如血液样本,所述微粒诸如白细胞、血小板或细菌。

[0010] 因此,根据本发明的方面,提供一种用于分析液体样本中的微粒的方法,该样本保持在样本保持设备中,该方法包括:通过图像采集设备,在样本保持设备内不同焦平面处采集所述样本的多个图像;以及通过图像分析器,分析所述图像,用于识别在所分析的图像的任何一个中对焦成像的样本的微粒;以及对所识别的微粒的每一个,识别在所述分析图像的哪一个中识别出该微粒,以及使用各自的图像分析那些微粒,其中那些微粒在所分析的图像的任何一个中已经被识别为对焦成像,而所述各自图像中的各自的微粒已经被识别为对焦成像;其中,在不同的、基本上平行的焦平面处采集所述多个图像,所述平面彼此分开一距离,所述距离小于 10 微米;其中,对每一微粒,通过如下步骤来实现对所对焦成像的微粒的所述识别:找到可辨别微粒的图像;确定由微粒占据的图像的区域和不能辨别出微粒的图像的区域间的光强的最大差值;确定可辨别出相同微粒的其他图像中的光强的相应差值;以及识别光强的差值最高的图像;由此将该微粒视为在该识别的图像中被对焦。

[0011] 通过在不同焦平面处采集多个图像,能覆盖更多容积的样本,其中,这些微粒仍然被对焦成像。由此还可以使用更大的样本保持设备,其中,可以增加垂直于焦平面的样本深度。如果分析包括浓度确定,则这对较低浓度的微粒也可以实现,因为增加了分析的容积。

[0012] 在采集图像前,不需要等待样本沉淀。在微粒处于悬浮的状态下就可以对样本进行成像。

[0013] 通过在不同焦平面处采集多个图像,以及确定在哪一图像中对哪些微粒进行了对焦成像,也可以确定每个微粒在样本中多深处。由此,例如可以将两个或更多重叠的微粒彼此公开,因为它们存在于样本中的不同深度处。

[0014] 另外,通过在不同焦平面处采集多个图像以及确定在哪一图像中对哪些微粒进行了对焦成像,可以确定垂直于焦平面的微粒尺寸,因为可以计算出每个微粒在多少个图像中被对焦,这些图像在不同但相邻的焦平面处获取。然而,这当然依赖于微粒相对于各焦平面间的距离足够大。

[0015] 焦平面间的较小距离意味着可以更好对焦成像微粒,即使以更高的放大率。因此,当减小焦平面间的距离时,也可以成像更小的微粒用于分析。并且,鉴于上面讨论的在不同焦平面处采集多个图像的优点随着减小距离而放大,可以更详细地成像和分析微粒。

[0016] 可以通过例如移动置于样本和图像采集设备间的透镜或其他光折射器,实现从一个焦平面移向另一个。为了将焦平面移动诸如根据本发明的一小段距离,例如,可以将压电电动机用于移动透镜。这种电动机还具有能快速并以高精度移动透镜的优点。

[0017] 焦平面基本上彼此平行并且垂直于光轴,该光轴从图像采集设备延伸并通过样本。

[0018] 图像分析器分析多个图像以便识别对焦成像的微粒,诸如细胞。这允许对相对厚的样本采集图像,同时仅计数或者以另外方式分析对准焦点的微粒。通过确保仅计数对焦的微粒,即,当足够清楚详尽地成像微粒时,在样本中可以执行对微粒的类型的识别,该样本可以同时用来确定样本中微粒的统计上可靠的容积计数。

[0019] 通过进一步减小焦平面间的距离,能放大减小焦平面间的距离的优点。因此,该距离优选小于 5 微米,更优选小于 2 微米,甚至 1.8 微米或更小,特别是 1.6 微米或更小。

[0020] 当识别出哪些图像中对焦成像了哪些微粒时,优选将在不同焦平面处采集的不同

图像彼此相比较。特定微粒典型地在具有不同焦平面的几个不同图像中是可辨别的,其中,所述图像的焦平面彼此相邻(即分开小于10微米的距离)。为识别在哪一图像中该特定微粒得以在最佳焦点处成像,可以将各个图像的对比度用作选择标准。因此,确定由特定微粒占据的图像的区域和无微粒可辨别的图像的区域即背景间的光强的最大差值。用相同的方式研究可辨别出相同微粒的其他图像。因此,能识别相对于特定微粒显示最大对比度的图像,以及将该微粒视为在该识别的图像中被对焦。然后对在所采集的图像的任何一个图像中可辨别的所有微粒,重复相同的过程。

[0021] 此外,作为互补或替换,基于像素或样本方差(variance)可以实现识别在所采集的图像的哪一个图像中对焦成像了哪些微粒。像素方差可以带偏差(biased, S_N^2)或进行过偏差校正(S_{N-1}^2)。根据下述公式,计算偏差校正后的像素方差:

$$[0022] \quad S_{N-1}^2 \equiv \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2$$

[0023] 其中,N是像素数,x是像素i的光强,以及 \bar{x} 是平均光强。

[0024] 当将像素方差用于识别在哪一采集图像中对焦成像了微粒时,限定(定义)了包括微粒以及微粒最近的围绕物(surroundings,背景)的区域。然后,对该定义的区域确定像素方差。还对其他采集的图像的相应区域确定像素方差。识别为具有最高像素方差的图像是微粒被视为对焦的图像。然后,对在所采集的图像的任何一个图像中可辨别的其他微粒,重复该过程。

[0025] 因此,根据本发明的方面,还提供一种用于分析液体样本中的微粒的方法,该样本保持在样本保持设备中,该方法包括:通过图像采集设备,在样本保持设备内不同焦平面处采集所述样本的多个图像;以及通过图像分析器,分析所述图像,用于识别在所分析的图像的任何一个图像中对焦成像的样本的微粒;以及对所识别的微粒的每一个,识别在所述分析图像的哪一个中识别出该微粒,以及使用各自的图像分析那些微粒,其中那些微粒已经在所分析的图像的任何一个图像中被识别为对焦成像,而在各自的图像中各自的微粒已经被识别为对焦成像;其中,在不同的、基本上平行的焦平面处采集所述多个图像,所述平面彼此分开一距离,所述距离小于10微米;其中,对每一微粒通过如下步骤实现对所对焦成像的微粒的所述识别;找到可辨别出微粒的图像;限定该找到的图像的区域,所述区域包括微粒及其最近的围绕物;确定该限定区域的像素方差;确定可辨别出相同微粒的其他图像的相应区域的像素方差;以及识别其中像素方差最高的图像;由此将该微粒视为在该识别的图像中被对焦。

[0026] 包括确定光强的差值的本发明方法有关的上述论述也在与包括确定像素方差的本发明方法有关的可用部分中。参考该论述。下面的论述与该两个本发明方法的可选特征有关。

[0027] 特定微粒可以通过在其中所述微粒可辨别的每一图像中具有基本上相同的空间位置,而被识别为多个图像中的相同微粒,因为沿着从图像采集设备通过样本的光轴在不同焦平面处采集图像,但不侧向偏移。因此,图像基本上是样本的相同区域,但在所述样本中的不同深度。因为微粒在液体样本中,由此可能稍微随时间移动,期望在相对短的时间内采集图像。优选每秒采集至少两个图像,更优选至少5个图像,以及最优选至少10个图像。

这也整体上加速了该分析。

[0028] 本发明方法的任何一个可以进一步包括叠加多个图像,由此获得包含在不同焦平面处对焦成像的所有微粒的叠加图像。因此,可以在单个二维图像中表示样本的整个分析容积,可以在该二维图像中对焦地显示样本微粒,而不管成像时它们中的每一个实际在样本容积中多深处。

[0029] 优选,按每一焦平面仅一个图像的顺序采集多个图像,其中,焦平面在每一图像间移动特定距离,该特定距离小于 10 微米。该采集图像的方法快速并且可以通过简单的装置来实现。

[0030] 如果采集更大量的图像,则可以覆盖更大容积的样本。如上所述,容积越大,例如浓度确定可以越精确,以及可以对较低浓度的微粒进行浓度确定。方便地,根据本发明,采集至少 10 个,优选至少 20 个,更优选至少 50 个,甚至更优选至少 100 个,以及最优选至少 200 个图像。

[0031] 并且,为能分析大容积的样本,样本保持设备可能呈现用于成像的液体样本,以便样本具有足够大、垂直于焦平面的深度。所述深度优选至少 100 微米,更优选至少 200 微米,甚至更优选至少 500 微米。

[0032] 方便地,将样本保持设备配置成呈现用于成像的液体样本,以便样本的深度为 1 毫米或更小。这意味着样本保持设备可以具有尺寸为 1 毫米或更小的腔,由此将液体样本通过毛细管作用引入到腔中。由此,能够将液体样本通过入口直接吸入到腔中,使腔与设备的外部相通,消除了吸液管、泵或其他仪器的需要。更具体地说,能将血液从病人的被扎手指直接吸入到腔中。当然,腔的其他尺寸可能更大,以及由通过图像采集设备对样本的多大区域进行成像而定,实际上期望其他尺寸更大。

[0033] 对生物分析来说本发明特别受关注。因此,液体样本可以是生物样本,诸如牛奶、尿、脊髓液或特别是血液,诸如全血或血浆。

[0034] 微粒也可以是生物,诸如真核细胞,特别是哺乳动物细胞,更优选是人体细胞,诸如人体白细胞。然而,因为不同焦平面间的距离足够小以致根据本发明可以充分地分析甚至更小的微粒,因此,作为一种替代,微粒可以具有小于 20 微米,方便地小于 10 微米,优选小于 5 微米,以及更优选小于 2 微米的最大直径。对通过本发明进行分析有很大兴趣的这种小的生物微粒的例子是例如细菌、病毒和血小板。

[0035] 如上所述,作为分析的例子,本发明的方法可以用于确定样本中的微粒浓度。然后,与成像的样本的容积关联地输入所识别的微粒的数量。由样本的成像面积乘以样本的成像深度,定义该容积。结合任何放大或缩小,通过图像采集设备的选择,确定成像面积。成像深度是成像数量和每一图像间的距离的函数。对在成像容积中将计数的,在图像的至少一个中对焦成像的所有微粒,该分析当然可能依赖于足够小的距离或足够大的微粒。本发明所能实现的另一分析是确定微粒的不同类型。微粒的不同类型可以由它们各自的物理特征而确定。这些特征可以是例如微粒的大小、颜色、乳光和 / 或形状。优选,根据本发明的微粒的分析包括确定微粒的类型和数量,以便可以确定样本中的不同类型的微粒的比率。已经识别为对焦成像的那些微粒的分析由此可以包括确定微粒的类型和数量,可利用微粒的物理特征来区分类型,由此确定样本中的不同类型的微粒的比率。

[0036] 在采集图像前,已经通过染色剂染色待分析的微粒。这意味着可以将微粒更容易

地与背景液体区分开来。如果例如微粒是真核细胞,可以采用有选择地染色细胞核的染色剂。为进一步提高采集图像中的可区分性,然后通过由染色剂吸收的特定波长的光照射样本,由此相对于较亮背景,将细胞核清楚地成像为暗区或点。另外,染色剂可以是例如特别结合到待分析的微粒的荧光染料,或荧光标记的抗体或抗体片段。然后,可以通过由染料或抗体的荧光团吸收的电磁波长照射样本,以及图像采集设备适于特别地检测随后由荧光团发射的电磁波长,由此相对于较暗背景,染色的微粒将成像为亮区或点。

[0037] 在将液体样本引入样本保持设备中前,在样本保持设备内,染色剂可以呈现为干燥的形式。因此,染色剂可以在它的生产期间包括在样本保持设备中。根据本发明对样本保持设备的腔中的样本采集图像前,染色剂可以是例如在设备的腔壁上干燥的,稍后液体样本引入到该腔中,溶解该染色剂。代替或除染色剂外,其他试剂或化学制剂可以包括在样本保持设备中,诸如溶血剂,用于裂解全血的样本中的红细胞,或润湿剂,例如用于便于液体样本由毛细管作用吸入到样本保持设备中。通过包括由本发明方法进行分析所需的所有化学试剂,样本保持设备提供直接获得样本到设备的腔中以及提供它用于分析的可能性。不需要样本制备。实际上,如果如上所述,该腔为毛细管,那么可以将血液样本从病人的被扎手指直接吸入到腔中,或可以将任何样本从试管或井或任何其他容器直接吸入到腔中。向样本保持设备提供试剂使能够在样本保持设备中进行反应,这使得样本便于 (ready for) 分析。当样本与试剂接触时,开始反应。因此,不需要手动地制备样本,使得分析特别适合于在实验室中例如当病人正在等待时直接执行。

[0038] 由于以干燥的形式提供试剂,因此,样本保持设备可以是即用套件,该即用套件可以运输并在长时间内存储,而不影响样本保持设备的可用性。因此,在进行样本分析很早以前,就可以制造和制备带试剂的样本保持设备。

[0039] 样本保持设备可以是一次性的,即,可以配置成仅使用一次。如果样本保持设备适用于仅使用一次,可以不考虑清洁样本保持设备和可能重新施加试剂的任何可能性来形成它。并且,可以以塑料材料模制样本保持设备,因此,可以以低成本制造。因此,使用一次性样本保持设备仍然是经济高效的。

[0040] 图像采集设备可以是数码相机。这种图像采集设备允许采集图像的整个面积以便同时成像,在此之后,可以将图像直接呈现给图像分析器,用于数字图像分析。照相机可以是例如 CCD 或 CMOS 类型。

[0041] 依据例如成像的微粒的大小和图像采集设备的分辨率,可以有利地采集液体样本的放大或缩小的图像。可以通过光折射器,诸如透镜实现放大或缩减,所述透镜可以定位成与样本和图像采集设备间的光轴相交。方便地,使用放大,诸如 2-50x 的放大,优选 2-30x 的放大,更优选 2-20x 的放大,最优选 3-10x 的放大。然而,如果将分析非常小的微粒,诸如细菌、病毒或血小板,可以优选甚至更高的放大倍率,诸如 10-50x,更优选 10-35x,最优选 10-20x 的放大。即使使用高放大倍率,仍然可以由图像覆盖足够大的容积,因为在样本中的不同焦平面处采集许多图像。由此可以由样本的成像面积与由多个图像覆盖的样本的深度相乘来定义样本的成像容积。

[0042] 如上所述,所使用的光学放大或缩小被关联到图像采集设备的分辨率。该分辨率方便地为至少 3 兆像素,优选至少 5 兆像素,特别是 6 兆像素或更高。

[0043] 根据本发明的另一方面,提供了一种测量装置,用于分析液体样本中的微粒,该装

置包括：图像采集设备，图像分析器，配置成固定保持液体样本的样本保持设备的固定器，以及置于所述图像采集设备和所述固定器之间的光折射器；其中，当样本保持设备由所述固定器固定时，可在样本保持设备内逐步移动焦平面，由此该图像采集设备适于在样本保持设备内的不同焦平面处采集所述样本的多个图像，不同焦平面基本上彼此平行、并彼此分开一距离，所述距离小于 10 微米；其中，配置所述图像分析器来分析至少一个采集的图像，用于识别哪些微粒被对焦成像，以及分析已经识别为对焦成像的那些微粒；其中，对每一微粒通过如下步骤来实现对所对焦成像的微粒的所述识别：找到可辨别微粒的图像；确定微粒所占据的图像的区域与没有微粒可辨别的图像的区域之间的光强的最大差值；确定可辨别出相同微粒的其他图像中的光强的相应差值；以及识别其中光强差值最高的图像；由此将该微粒视为在该识别图像中被对焦。

[0044] 另外，本发明提供一种测量装置，用于分析液体样本中的微粒，该装置包括：图像采集设备，图像分析器，配置成固定保持液体样本的样本保持设备的固定器，以及置于所述图像采集设备和所述固定器之间的光折射器；其中，当由所述固定器固定样本保持设备时，可在样本保持设备内逐步移动焦平面，由此该图像采集设备适于在样本保持设备内的不同焦平面处采集所述样本的多个图像，不同焦平面基本上彼此平行、并彼此分开一距离，所述距离小于 10 微米；其中，配置所述图像分析器来分析至少一个采集的图像，用于识别哪些微粒被对焦成像，以及分析已经识别为对焦成像的那些微粒；其中，对每一微粒通过如下步骤实现对所对焦成像的微粒的所述识别：找到可辨别微粒的图像；限定该找到的图像的区域，所述区域包括微粒及其最近的围绕物；确定该限定区域的像素方差；确定可辨别出相同微粒的其他图像的相应区域的像素方差；以及识别出像素方差最高的图像；由此将该微粒视为在该识别的图像中被对焦。

[0045] 以下论述涉及两个另外的测量装置。

[0046] 该装置包括固定器，所述固定器配置成容纳样本保持设备，如上关于本发明方法的方面所述，所述样本保持设备保持根据本发明采集其图像的液体样本。

[0047] 可以沿装置的光轴通过液体样本逐步移动焦平面，所述轴从图像采集设备延伸并通过固定器，以便每一步小于 10 微米，允许在每一步后采集图像。

[0048] 可以在固定器和图像采集设备保持静止的同时，沿装置的光轴，通过移动例如透镜的光折射器来移动焦平面。为足够快并以足够的精确度、再现性和稳定性将焦平面移动如根据本发明的小距离，优选使用压电电动机来移动光折射器。

[0049] 装置的任何一个是进一步包括电磁辐射源，其配置成照射保持在样本保持设备中的样本。可以使用任何传统的辐射源，诸如发光二极管、激光或辉光灯。该光源允许样本的微粒在图像中更易于分辨。如果期望用特定波长照射样本，这可以通过传统的手段来实现，诸如通过采用激光，或滤色器结合光源。

[0050] 与本发明方法有关的以上论述也在与本发明装置有关的可用部分中。参考该论述。

[0051] 从用户观点来看，本发明的装置和方法提供了液体样本诸如全血的非常简单的分析。该分析不要求复杂的测量装置或将由操作者执行复杂的步骤。因此，可以与例如病人的检查直接联系执行，而不需要有资格的技师。仅要求将待分析的样本引入到样本保持设备中并利用样本保持设备保持该样本。因此，可以根据本发明方法优选通过本发明装置以

自动方式分析样本,并直接响应于此,该装置可以呈现分析结果。

附图说明

[0052] 现在,将参考附图,通过例子详细地描述本发明。

[0053] 图 1 是根据本发明的装置的示意图。

[0054] 图 2 是根据本发明的方法的流程图。

[0055] 图 3 是可以用在本发明方法或装置的优选实施例中的压电电动机的示意透视图。

具体实施方式

[0056] 参考图 1,本发明的装置包括光源 434、样本保持设备 410、光学系统 438(具有 5x 的放大系数,具有 6 兆像素的分辨率的图像采集设备,以及移动焦平面的能力),以及将光导向到图像采集设备 440 的光阑(diaphragm)450。该装置配置成使用不同光学设置,采集样本的几个数字图像。例如,这几个数字图像可以成像样本 710 的十个不同层 720a-j。

[0057] 参考图 2,将描述用于白细胞的容积计数的方法。该方法包括将血液样本采集到样本保持设备中,步骤 102。将全血的未稀释样本采集到样本保持设备中。可以从毛细血管血或静脉血采集样本。毛细血管血的样本可以从病人的被扎手指直接引入到样本保持设备的腔中。血液样本在样本保持设备内与干燥的包括溶血剂和染色剂的试剂接触,开始反应。将溶解红细胞以及在样本的红细胞的细胞核中累积染色剂。在从采集血液样本开始的几分钟内,样本准备好以供分析。另外,采集血液样本并在引入到样本保持设备中之前与溶血剂和染色剂混合。然后,将样本保持设备放在本发明的装置中,步骤 104。可以通过按下该装置的开关,启动分析。另外,通过检测到存在样本保持设备的装置,来自动地启动分析。

[0058] 照射样本,步骤 106,以及在样本的不同层,即在彼此相距 1.6 微米的距离的不同焦平面,并以 5x 的光学放大倍率,采集具有 6 兆像素的分辨率的多个数字图像,步骤 108。用对应于染色剂的吸收峰的波长的电磁辐射照射该样本。这意味着数字图像将在白细胞细胞核的位置中包含黑或更暗的点。

[0059] 将所采集的数字图像传送到图像分析器,该图像分析器执行多个数字图像的图像分析,步骤 110。图像分析器通过计数黑点确定白细胞的浓度,识别在哪一图像中哪些细胞是对焦的,以及分析焦点对准的一定数量的细胞的大小和形状,以便分类白细胞,并获得血样中的不同类型的白细胞的比率。

[0060] 参考图 3,压电电动机 1 包括圆形定子 3 和圆形转子 2,该转子 2 压在定子 3 的表面上,由此能进行机械输出。在电动机的操作期间,在由箭头 6 所指示的方向中,在定子 3 的表面上生成行波,所述表面充当柔性环,以及在转子界面处产生椭圆运动。接触面的该椭圆运动在由箭头 7 表示的方向中推动转子 2,由此使连接到它的驱动轴运动。如易于明白,由箭头 6 和 7 表示的方向可以与图 3 中所示的方向相反。连接到定子 3 的齿可以用来增加旋转速度。来自电动机的输出例如依赖于:运动的转子和定子间的界面处的磨擦,以及定子 3 中的行波的振幅和其他特性。

[0061] 应当强调,在此所述的优选实施例决不是限制性的,以及在由所附权利要求书限定的保护范围内,许多可选的实施例也是可能的。

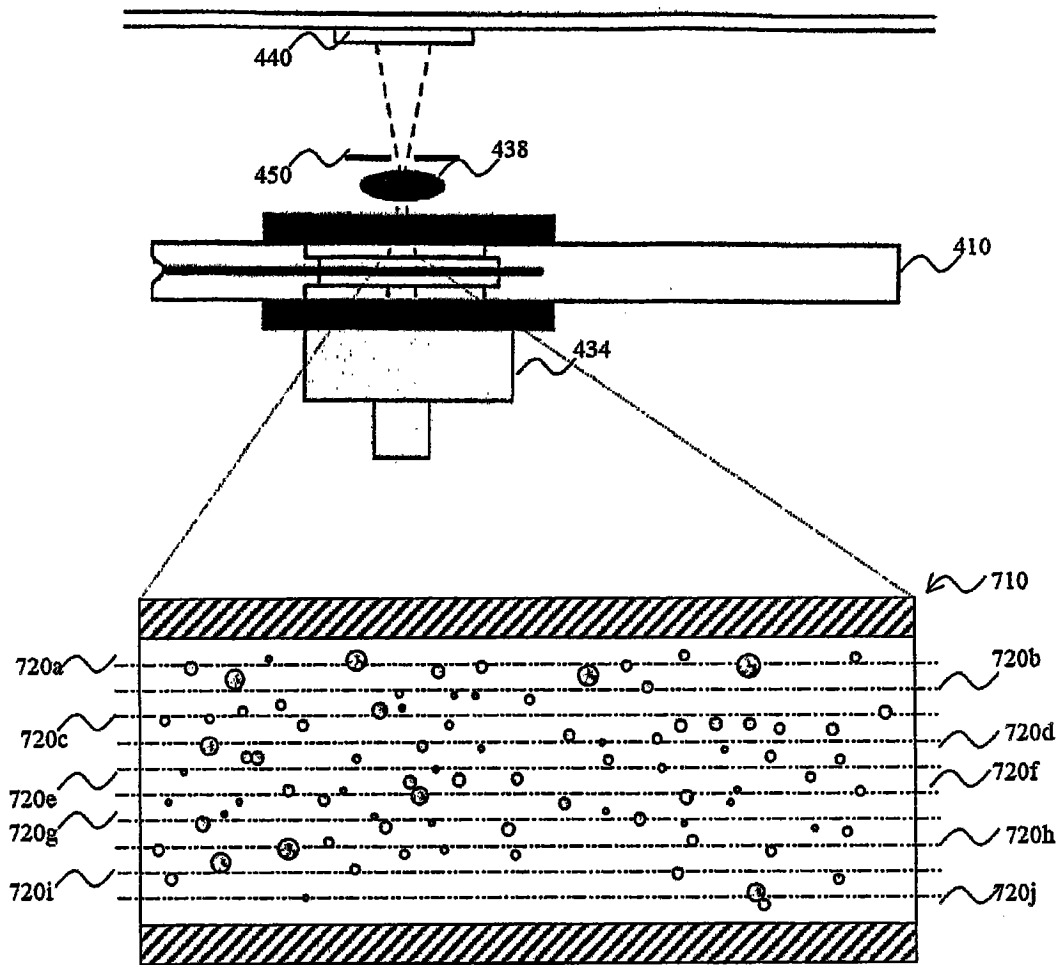


图 1

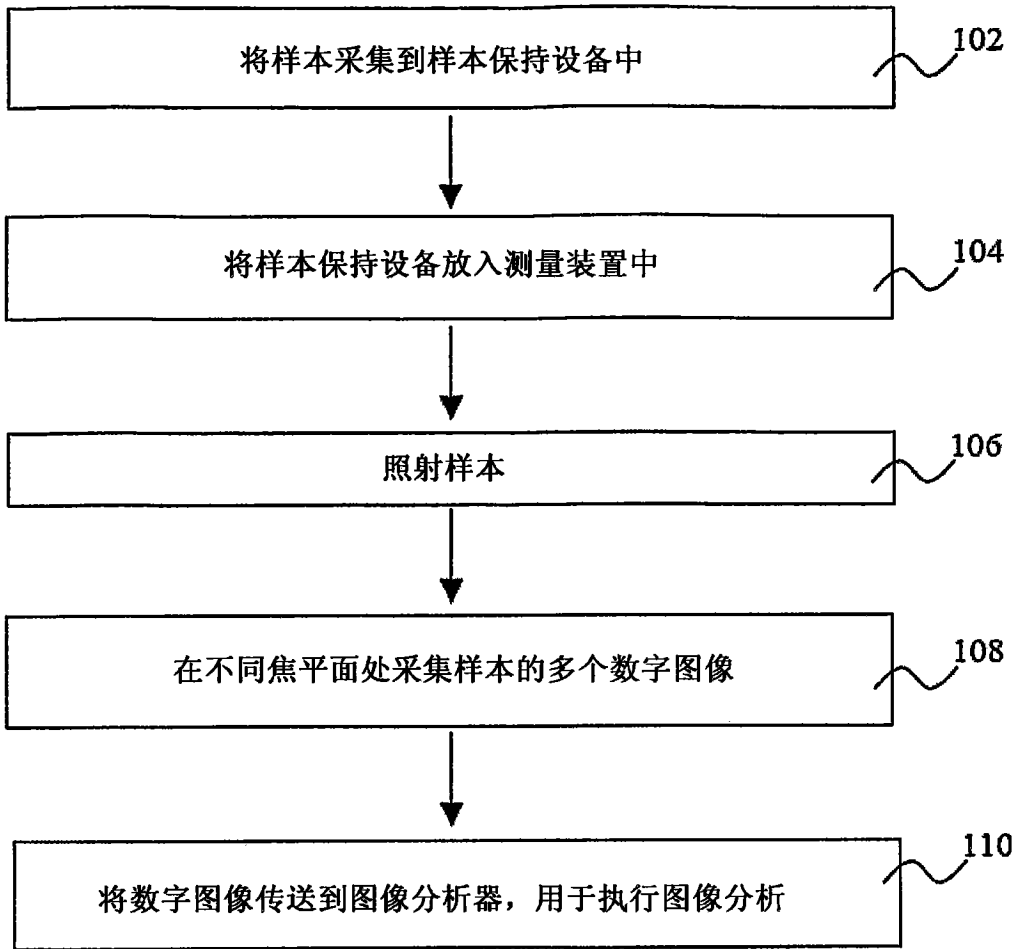


图 2

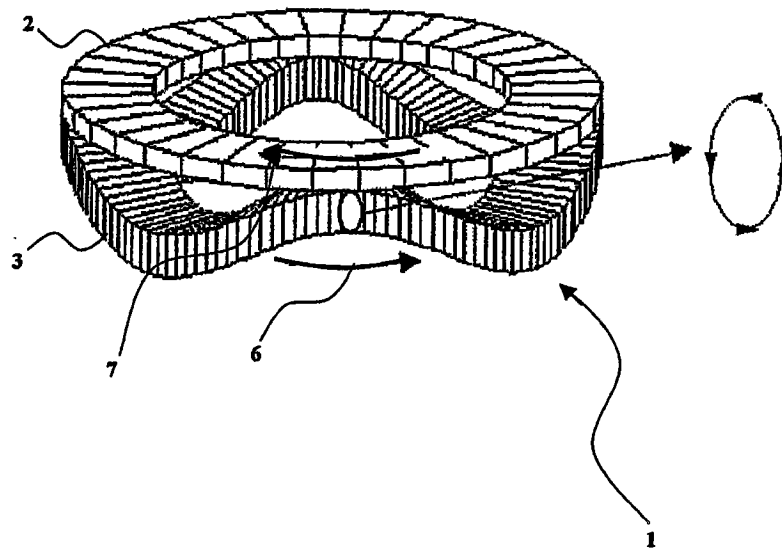


图 3