

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5619604号
(P5619604)

(45) 発行日 平成26年11月5日(2014.11.5)

(24) 登録日 平成26年9月26日(2014.9.26)

(51) Int.Cl.	F I
GO 1 N 33/49 (2006.01)	GO 1 N 33/49 A
GO 1 N 15/14 (2006.01)	GO 1 N 15/14 D
GO 1 N 33/483 (2006.01)	GO 1 N 33/483 C
GO 1 N 33/72 (2006.01)	GO 1 N 33/72 A
GO 1 N 33/48 (2006.01)	GO 1 N 33/48 P

請求項の数 11 (全 22 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2010-511054 (P2010-511054)	(73) 特許権者 390014960 シスメックス株式会社 兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号
(86) (22) 出願日 平成21年4月28日(2009.4.28)	
(86) 国際出願番号 PCT/JP2009/058327	(74) 代理人 100104433 弁理士 宮園 博一
(87) 国際公開番号 W02009/136573	(72) 発明者 松本 英彬 日本国兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号 シスメックス株式会社内
(87) 国際公開日 平成21年11月12日(2009.11.12)	(72) 発明者 内橋 欣也 日本国兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号 シスメックス株式会社内
審査請求日 平成24年4月17日(2012.4.17)	(72) 発明者 糸瀬 裕司 日本国兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号 シスメックス株式会社内 最終頁に続く
(31) 優先権主張番号 特願2008-123403 (P2008-123403)	
(32) 優先日 平成20年5月9日(2008.5.9)	
(33) 優先権主張国 日本国(JP)	

(54) 【発明の名称】 血液分析装置、血液分析方法、溶血剤および染色剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

血液試料と溶血剤とを含む第1測定試料と、前記血液試料と前記溶血剤と同じ溶血剤と染色剤とを含む第2測定試料とを調製することが可能な試料調製部と、

前記第1測定試料から、第1蛍光情報と、少なくとも2種類の第1散乱光情報とを生成するとともに、前記第2測定試料から、第2蛍光情報と第2散乱光情報とを生成することが可能な光情報生成部と、

前記第1測定試料に含まれる白血球を分析する場合、前記光情報生成部により生成された前記第1蛍光情報と前記2種類の第1散乱光情報とに基づいて、前記第1測定試料中の白血球を、少なくとも、単球と、好中球と、好酸球と、他の集団との4つに第1分類し、前記第2測定試料に含まれるマラリア感染赤血球を分析する場合、前記光情報生成部により生成された前記第2蛍光情報と前記第2散乱光情報とに基づいて、前記第2測定試料中の血球を、マラリア感染赤血球とマラリア感染赤血球以外の集団とに分類する制御部とを備え、

前記第2測定試料における前記溶血剤の希釈倍率は、前記第1測定試料における前記溶血剤の希釈倍率と異なる、血液分析装置。

【請求項2】

前記第1測定試料に含まれる白血球を分析する場合、前記光情報生成部は、前記試料調製部によって調製された前記第1測定試料から前記第1蛍光情報と少なくとも2種類の第1散乱光情報とを生成し、

前記第2測定試料に含まれるマラリア感染赤血球を分析する場合、前記光情報生成部は、前記試料調製部によって調製された前記第2測定試料から前記第2蛍光情報と前記第2散乱光情報とを生成する、請求項1の血液分析装置。

【請求項3】

前記試料調製部は、前記血液試料と前記溶血剤とを含む第3測定試料をさらに調製することが可能であり、

前記血液分析装置は、前記第3測定試料から、試料の電気情報を生成する電気情報生成部をさらに備え、

前記制御部は、前記第1及び第3測定試料に含まれる白血球を分析する場合、前記電気情報生成部により生成された電気情報に基づいて、前記第3測定試料中の白血球を少なくともリンパ球とリンパ球以外の集団とに第2分類するとともに、前記第1分類および前記第2分類の分類結果に基づいて、前記測定試料中の白血球を、少なくとも、リンパ球と、好塩基球と、単球と、好中球と、好酸球との5つに分類するように構成されている、請求項1または2に記載の血液分析装置。

10

【請求項4】

前記第3測定試料から、試料の透過光情報または散乱光情報の少なくとも一方を生成する第2光情報生成部をさらに備え、

前記制御部は、前記第2光情報生成部により生成された前記透過光情報または前記散乱光情報の少なくとも一方に基づいて、前記第3測定試料中のヘモグロビン濃度を取得するように構成されている、請求項3に記載の血液分析装置。

20

【請求項5】

前記第2測定試料における前記溶血剤の希釈倍率は、前記第1測定試料における前記溶血剤の希釈倍率よりも小さい、請求項1～4のいずれか一項に記載の血液分析装置。

【請求項6】

前記試料調製部は、前記血液試料、所定の試薬容器に収容された前記溶血剤、および、所定量の希釈液を混合することにより前記第1測定試料を調製し、前記血液試料、前記所定の試薬容器に収容された前記溶血剤、および、前記所定量よりも少ない量の前記希釈液を混合することにより前記第2測定試料を調製するように構成されている、請求項1に記載の血液分析装置。

【請求項7】

前記試料調製部は、前記溶血剤と前記希釈液とを混合した状態で、前記血液試料を混合することにより前記第2測定試料を調製するように構成されている、請求項6に記載の血液分析装置。

30

【請求項8】

前記試料調製部は、少なくとも前記血液試料、および、前記第1測定試料に用いられる前記溶血剤が収容された第1試薬容器とは異なる第2試薬容器に収容された前記溶血剤を混合することにより前記第2測定試料を調製するように構成されている、請求項1～7のいずれか一項に記載の血液分析装置。

【請求項9】

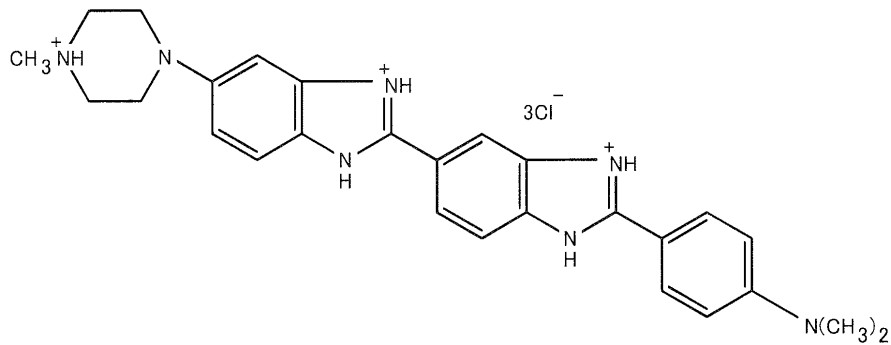
前記溶血剤は、2種類のカチオン性界面活性剤を含む、請求項1～8のいずれか一項に記載の血液分析装置。

40

【請求項10】

前記染色剤は、以下の式で示される蛍光色素と、ノニオン界面活性剤とを含む、請求項1～9のいずれか一項に記載の血液分析装置。

【化1】



10

【請求項11】

血液試料と所定の希釈倍率の溶血剤とを含む第1測定試料を調製するステップと、
血液試料と前記溶血剤と同じ溶血剤と染色剤とを含み、この溶血剤の希釈倍率は前記溶血剤の前記所定の希釈倍率と異なる第2測定試料を調製するステップと、

前記第1測定試料から、第1蛍光情報と、少なくとも2種類の第1散乱光情報とを生成するステップと、

前記第2測定試料から、第2蛍光情報と第2散乱光情報とを生成するステップと、前記第1測定試料から生成された前記第1蛍光情報と前記2種類の第1散乱光情報とに基づいて、前記第1測定試料中の白血球を、少なくとも、単球と、好中球と、好酸球と、他の集団との4つに分類するステップと、

20

前記第2測定試料から生成された前記第2蛍光情報と前記第2散乱光情報とに基づいて、前記第2測定試料中の血球を、マラリア感染赤血球とマラリア感染赤血球以外の集団とに分類するステップとを備える、血液分析方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、血液分析装置、血液分析方法、溶血剤および染色剤に関し、特に、白血球を分類し、マラリア感染赤血球を検出する血液分析装置、血液分析方法、ならびに、この血液分析方法に用いる溶血剤および染色剤に関する。

【背景技術】

30

【0002】

従来、白血球を分類する血液分析装置が知られている。このような血液分析装置は、たとえば、特開2006-292738号公報に開示されている。また、従来、マラリア感染赤血球を検出する血液分析装置も知られている。このような血液分析装置は、たとえば、特開2006-304774号公報に開示されている。

【0003】

上記特開2006-292738号公報に記載の血液分析装置は、白血球分類用の専用の試薬を用いて、フローサイトメータ（光情報生成部）により散乱光および蛍光を測定し、測定試料中の白血球を4つに分類するように構成されている。

【0004】

40

上記特開2006-304774号公報に記載の血液分析装置は、マラリア感染赤血球検出用の専用の試薬を用いて、フローサイトメータ（光情報生成部）により散乱光および蛍光を測定し、測定試料中のマラリア感染赤血球を検出するように構成されている。

【0005】

また、近年、白血球分類およびマラリア感染赤血球検出の両方を行うことが可能な血液分析装置が望まれている。

【0006】

しかしながら、上記特開2006-292738号公報の血液分析装置では、白血球分類用の専用の試薬を用いて白血球分類を行うとともに、上記特開2006-304774号公報の血液分析装置では、白血球分類用試薬とは組成の異なるマラリア感染赤血球検出

50

用の専用の試薬を用いてマラリア感染赤血球検出を行うので、上記特開2006-292738号公報の血液分析装置と上記特開2006-304774号公報の血液分析装置とを組み合わせ、白血球分類およびマラリア感染赤血球検出の両方を行うことが可能な血液分析装置を得た場合でも、白血球分類およびマラリア感染赤血球検出の両方を行うために組成の異なる2種類の試薬を別々に開発する必要があり、その結果、ユーザに負担がかかるという問題点がある。

【発明の概要】

【0007】

この発明は、上記のような課題を解決するためになされたものであり、この発明の1つの目的は、試薬開発に起因するユーザへの負担を軽減しながら、測定試料中の白血球を4つに分類し、かつ、マラリア感染赤血球を検出することが可能な血液分析装置、血液分析方法、ならびに、この血液分析方法に用いる溶血剤および染色剤を提供することである。

10

【0008】

上記目的を達成するために、この発明の第1の局面による血液分析装置は、血液試料と溶血剤とを含む第1測定試料と、前記血液試料と前記溶血剤と同じ溶血剤と染色剤とを含む第2測定試料とを調製することが可能な試料調製部と、前記第1測定試料から、第1蛍光情報と、少なくとも2種類の第1散乱光情報とを生成するとともに、前記第2測定試料から、第2蛍光情報と第2散乱光情報とを生成することが可能な光情報生成部と、前記第1測定試料に含まれる白血球を分析する場合、前記光情報生成部により生成された前記第1蛍光情報と前記2種類の第1散乱光情報とに基づいて、前記第1測定試料中の白血球を、少なくとも、単球と、好中球と、好酸球と、他の集団との4つに第1分類し、前記第2測定試料に含まれるマラリア感染赤血球を分析する場合、前記光情報生成部により生成された前記第2蛍光情報と前記第2散乱光情報とに基づいて、前記第2測定試料中の血球を、マラリア感染赤血球とマラリア感染赤血球以外の集団とに分類する制御部とを備え、前記第2測定試料における前記溶血剤の希釈倍率は、前記第1測定試料における前記溶血剤の希釈倍率と異なる。

20

【0009】

上記第1の局面による血液分析装置において、好ましくは、前記第1測定試料に含まれる白血球を分析する場合、前記光情報生成部は、前記試料調製部によって調製された前記第1測定試料から前記第1蛍光情報と少なくとも2種類の第1散乱光情報とを生成し、前記第2測定試料に含まれるマラリア感染赤血球を分析する場合、前記光情報生成部は、前記試料調製部によって調製された前記第2測定試料から前記第2蛍光情報と前記第2散乱光情報とを生成する。

30

上記第1の局面による血液分析装置において、好ましくは、試料調製部は、前記血液試料と前記溶血剤とを含む第3測定試料をさらに調製することが可能であり、前記血液分析装置は、前記第3測定試料から、試料の電気情報を生成する電気情報生成部をさらに備え、前記制御部は、前記第1及び第3測定試料に含まれる白血球を分析する場合、前記電気情報生成部により生成された電気情報に基づいて、前記第3測定試料中の白血球を少なくともリンパ球とリンパ球以外の集団とに第2分類するとともに、前記第1分類および前記第2分類の分類結果に基づいて、前記測定試料中の白血球を、少なくとも、リンパ球と、好塩基球と、単球と、好中球と、好酸球との5つに分類するように構成されている。

40

【0010】

この場合、好ましくは、第3測定試料から、試料の透過光情報または散乱光情報の少なくとも一方を生成する第2光情報生成部をさらに備え、制御部は、第2光情報生成部により生成された透過光情報または散乱光情報の少なくとも一方に基づいて、第3測定試料中のヘモグロビン濃度を取得するように構成されている。

【0012】

上記第1の局面による血液分析装置において、好ましくは、第2測定試料における溶血剤の希釈倍率は、第1測定試料における溶血剤の希釈倍率よりも小さい。

【0013】

50

上記第1の局面による血液分析装置において、好ましくは、試料調製部は、血液試料、所定の試薬容器に収容された溶血剤、および、所定量の希釈液を混合することにより第1測定試料を調製し、血液試料、所定の試薬容器に収容された溶血剤、および、所定量よりも少ない量の希釈液を混合することにより第2測定試料を調製するように構成されている。

【0014】

この場合、好ましくは、試料調製部は、溶血剤と希釈液とを混合した状態で、血液試料を混合することにより第2測定試料を調製するように構成されている。

【0015】

上記第1の局面による血液分析装置において、好ましくは、試料調製部は、少なくとも血液試料、および、第1測定試料に用いられる溶血剤が収容された第1試薬容器とは異なる第2試薬容器に収容された溶血剤を混合することにより第2測定試料を調製するように構成されている。

10

【0017】

上記第1の局面による血液分析装置において、好ましくは、溶血剤は、2種類のカチオン性界面活性剤を含む。

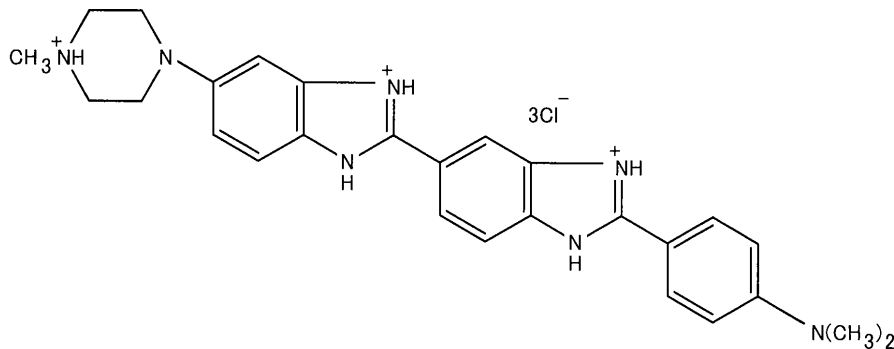
【0018】

上記第1の局面による血液分析装置において、染色剤は、以下の式で示される蛍光色素と、ノニオン界面活性剤とを含んでいてもよい。

【0019】

【化2】

20



30

【0020】

この発明の第2の局面による血液分析方法は、血液試料と所定の希釈倍率の溶血剤とを含む第1測定試料を調製するステップと、血液試料と前記溶血剤と同じ溶血剤と染色剤とを含み、この溶血剤の希釈倍率は前記溶血剤の前記所定の希釈倍率と異なる第2測定試料を調製するステップと、第1測定試料から、第1蛍光情報と、少なくとも2種類の第1散乱光情報とを生成するステップと、第2測定試料から、第2蛍光情報と第2散乱光情報とを生成するステップと、第1測定試料から生成された第1蛍光情報と2種類の第1散乱光情報とに基づいて、第1測定試料中の白血球を、少なくとも、単球と、好中球と、好酸球と、他の集団との4つに分類するステップと、第2測定試料から生成された第2蛍光情報と第2散乱光情報とに基づいて、第2測定試料中の血球を、マラリア感染赤血球とマラリア感染赤血球以外の集団とに分類するステップとを備える。

40

【図面の簡単な説明】

【0023】

【図1】本発明の一実施形態による血液分析装置の概略構成を示す正面図である。

【図2】図1に示した一実施形態による血液分析装置の構成を示すブロック図である。

【図3】図1に示した一実施形態による血液分析装置の測定ユニットを示す斜視図である。

【図4】図1に示した一実施形態による血液分析装置の測定ユニットの内部構造を示す斜

50

視図である。

【図 5】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置の測定ユニットの内部構造を示す側面図である。

【図 6】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置の測定ユニットに設けられたフローセルの構成を模式的に示す斜視図である。

【図 7】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置の測定ユニットに設けられた W B C 分類測定部の構成を示す概略図である。

【図 8】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置の測定ユニットに設けられた D C 測定部の構成を模式的に示す斜視図である。

【図 9】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置の測定ユニットに設けられた H G B 測定部の構成を模式的に示す斜視図である。

10

【図 10】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置に用いられる溶血剤の組成を示す図である。

【図 11】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置に用いられるマラリア検出用の染色液の組成を示す図である。

【図 12】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置における試料分析処理を示すフローチャートである。

【図 13】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置に用いられる第 3 測定試料および第 4 測定試料の作成工程を説明するための図である。

【図 14】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置において作成される白血球の粒度分布図である。

20

【図 15】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置において作成される白血球分類用のスキャッタグラムである。

【図 16】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置において作成される白血球分類用のスキャッタグラムである。

【図 17】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置において作成されるマラリア分類用のスキャッタグラムである。

【図 18】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置において、カチオン性界面活性剤の W B C (分類用) 測定試料における濃度が 2 . 1 5 m M である溶血剤を用いた場合の実験結果を示した図である。

30

【図 19】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置において、カチオン性界面活性剤の W B C (分類用) 測定試料における濃度が 2 . 1 5 m M である溶血剤を用いた場合の実験結果を示した図である。

【図 20】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置において、カチオン性界面活性剤の W B C (分類用) 測定試料における濃度が 0 . 6 2 m M である溶血剤を用いた場合の実験結果を示した図である。

【図 21】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置において、カチオン性界面活性剤の W B C (分類用) 測定試料における濃度が 0 . 6 2 m M である溶血剤を用いた場合の実験結果を示した図である。

【図 22】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置において、図 10 に示した溶血剤を用いた場合の実験結果を示した図である。

40

【図 23】図 1 に示した一実施形態による血液分析装置において、図 10 に示した溶血剤を用いた場合の実験結果を示した図である。

【発明を実施するための形態】

【0024】

以下、本発明の実施形態を図面に基づいて説明する。

【0025】

まず、図 1 ~ 図 11 を参照して、本発明の一実施形態による血液分析装置 1 の構成について説明する。

【0026】

50

本実施形態による血液分析装置 1 は、図 1 に示すように、血液検査に使用される装置であり、測定ユニット 2 と、データ処理ユニット 3 とによって主として構成されている。また、血液分析装置 1 は、たとえば、病院または病理検査施設などの医療機関の施設内に設置されている。また、血液分析装置 1 では、測定ユニット 2 により血液試料中に含まれる成分について所定の測定を行い、この測定データをデータ処理ユニット 3 で受信して分析処理を行っている。そして、測定ユニット 2 とデータ処理ユニット 3 とは、互いにデータ通信可能なように、データ伝送ケーブル 3 a により接続されている。なお、測定ユニット 2 とデータ処理ユニット 3 とは、データ伝送ケーブル 3 a により直接接続される構成であってもよいし、たとえば、電話回線を使用した専用回線、LAN またはインターネットなどの通信ネットワークを介して接続されていてもよい。

10

【0027】

測定ユニット 2 は、図 2 に示すように、試料供給部 4 と、WBC 分類測定部 5 と、DC 測定部 6 と、HGB 測定部 7 と、制御部 8 と、通信部 9 とを含んでいる。また、図 3 に示すように、測定ユニット 2 の正面右下部分には、血液試料を収容した採血管 20 をセット可能に構成された採血管セット部 2 a が設けられている。この採血管セット部 2 a は、その近傍に設けられたボタンスイッチ 2 b をユーザが押下することにより、手前方向に迫り出すように構成されている。ユーザは、採血管セット部 2 a が迫り出した状態で採血管 20 をセットすることが可能である。そして、採血管 20 をセットした後、ユーザが再度ボタンスイッチ 2 b を押下することにより、採血管セット部 2 a は測定ユニット 2 の内部に戻されるように構成されている。

20

【0028】

測定ユニット 2 の内部には、図 4 および図 5 に示すように、測定試料を吸引するピペット 21、および、血液試料と試薬とを混合調製するためのチャンバ 22、23 (図 5 参照) などが設けられている。ピペット 21 は、上下方向に延びた管状に形成されており、その先端は鋭く尖っている。また、ピペット 21 は、図示しないシリンジポンプに連結されており、このシリンジポンプの動作によって液体を所定量だけ吸引するとともに、吐出することが可能なように構成されている。また、ピペット 21 は、移動機構に接続されており、上下方向および前後方向にそれぞれ移動可能に構成されている。また、ピペット 21 は、採血管 20 を密閉するゴム製のキャップ 20 a に、鋭利な先端を穿刺することにより、採血管 20 に収容された血液試料を吸引するように構成されている。また、ピペット 21 は、血液試料を吸引した後、移動機構により所定の位置まで移動され、チャンバ 22 および 23 内に血液試料を供給するように構成されている。

30

【0029】

試料供給部 4 は、チャンバ 22 および 23、複数の電磁弁、ダイヤフラムポンプなどを有する流体ユニットである。チャンバ 22 は、赤血球、血小板の測定、およびヘモグロビン濃度の測定に用いられる測定試料を調製するために設けられている。また、チャンバ 23 は、白血球の測定に用いられる測定試料を調製するために設けられている。また、試料供給部 4 により構成される流体ユニットには、試薬容器が接続されている。具体的には、希釈液を収容するための希釈液容器 24、溶血剤 100 を収容するための溶血剤容器 25 およびマラリア検出用の測定試料に用いられる染色液を収容するための染色液容器 26 が流体ユニットに接続されている。これにより、希釈液および溶血剤 100 をチャンバ 22 に供給することが可能であるとともに、希釈液、溶血剤 100 および染色液をチャンバ 23 に供給することが可能である。

40

【0030】

WBC 分類測定部 5 は、光学式のフローサイトメータであり、半導体レーザー光を用いたフローサイトメトリー法により、白血球分類検出およびマラリア感染赤血球検出 (以下、マラリア検出という) を行うために設けられている。また、WBC 分類測定部 5 は、測定試料の液流を形成するフローセル 51 (図 6 参照) を有している。フローセル 51 は、透光性を有する石英、ガラス、合成樹脂などの材料によって管状に構成されており、その内部が測定試料およびシース液 (希釈液) が通流する流路となっている。このフローセル 5

50

1には、内部空間が他の部分よりも細く絞り込まれたオリフィス5 1 aが設けられている。また、オリフィス5 1 aの入口付近は二重管構造となっており、その内側管部分は試料ノズル5 1 bとなっている。また、試料ノズル5 1 bの外側の空間はシース液（希釈液）が通流する流路5 1 cであり、シース液（希釈液）は、流路5 1 cを通流し、オリフィス5 1 aに導入される。このようにフローセル5 1に供給されたシース液（希釈液）は、試料ノズル5 1 bから吐出された測定試料を取り囲むように流れる。そして、オリフィス5 1 aによって測定試料の流れが細く絞り込まれ、測定試料に含まれる白血球、赤血球などの粒子がシース液（希釈液）に取り囲まれて1つずつオリフィス5 1 aを通過する。

【0031】

また、WBC分類測定部5には、半導体レーザ光源5 2が、フローセル5 1のオリフィス5 1 aへ向けてレーザ光を出射するように配置されている。この半導体レーザ光源5 2は、青紫色半導体レーザ素子5 2 aを有し、波長が約405 nmの青紫色レーザ光を出射することが可能なように構成されている。また、半導体レーザ光源5 2とフローセル5 1との間には、複数のレンズからなる照射レンズ系5 3が配置されている。この照射レンズ系5 3によって、半導体レーザ光源5 2から出射された平行ビームがビームスポットに集束されるようになっている。また、半導体レーザ光源5 2から直線的に延びた光軸上には、フローセル5 1を挟んで照射レンズ系5 3に対向するように、ビームストップ5 4 aが設けられており、ビームストップ5 4 aは、半導体レーザ光源5 2からの直接光を遮光するように構成されている。

【0032】

また、ビームストップ5 4 aのさらに光軸下流側には、フォトダイオード5 4が配置されている。フォトダイオード5 4は、フローセル5 1を流れる測定試料により生じるレーザ光の散乱光を受光するように構成されている。具体的には、半導体レーザ光源5 2から直線的に延びた光軸に沿って進行する光のうち、半導体レーザ光源5 2の直接光はビームストップ5 4 aによって遮断されるので、フォトダイオード5 4は、概ね光軸方向に沿って進行する散乱光（以下、前方散乱光という）のみを受光するように構成されている。また、フォトダイオード5 4は、フローセル5 1から発せられた前方散乱光を光電変換し、これによって生じた電気信号（以下、前方散乱光信号という）をアンプ5 4 bに伝達するように構成されている。そして、アンプ5 4 bは、伝達された前方散乱光信号を増幅し、制御部8に出力するように構成されている。

【0033】

また、フローセル5 1の側方であって、半導体レーザ光源5 2からフォトダイオード5 4へ直線的に延びる光軸に対して直交する方向には、側方集光レンズ5 5が配置されており、この側方集光レンズ5 5は、フローセル5 1内を通過する血球にレーザ光を照射したときに発生する側方光（前記光軸に対して交差する方向へ出射される光）を集光するように構成されている。側方集光レンズ5 5の下流側にはダイクロイックミラー5 6が設けられており、ダイクロイックミラー5 6は、側方集光レンズ5 5から送られる信号光を散乱光成分と蛍光成分とに分けるように構成されている。ダイクロイックミラー5 6の側方（側方集光レンズ5 5とダイクロイックミラー5 6とを結ぶ光軸方向に交差する方向）には、側方散乱光受光用のフォトダイオード5 7が設けられており、ダイクロイックミラー5 6の光軸下流側には、光学フィルタ5 8 aおよびアバランシェフォトダイオード5 8が設けられている。また、フォトダイオード5 7は、ダイクロイックミラー5 6で分けられた側方散乱光成分を光電変換し、これによって生じた電気信号（以下、側方散乱光信号という）をアンプ5 7 aに伝達するように構成されている。そして、アンプ5 7 aは、伝達された側方散乱光信号を増幅し、制御部8に出力するように構成されている。

【0034】

また、アバランシェフォトダイオード5 8は、光学フィルタ5 8 aにより波長選択された後の側方蛍光成分を光電変換し、これによって生じた電気信号（側方蛍光信号）をアンプ5 8 bに伝達するように構成されている。そして、アンプ5 8 bは、伝達された側方蛍光信号を増幅し、制御部8に出力するように構成されている。

10

20

30

40

50

【0035】

DC測定部6は、シースフローDC検出法により、赤血球数(RBC)および血小板数(PLT)を測定することが可能なように構成されている。また、DC測定部6は、赤血球パルス波高値検出法により、ヘマトクリット値(HCT)を算出するための測定データも得ることが可能に構成されている。さらに、DC測定部6は、リンパ球比率を算出するための白血球数(WBC)検出にも用いられる。また、DC測定部6は、フローセルを有しており、このフローセルにチャンバ22から測定試料が移送されるようになっている。たとえば、赤血球数および血小板数の測定を行う場合には、図8に示すように、チャンバ22において血液試料と希釈液とが混合調製された測定試料が、シース液(希釈液)とともに試料供給部4からフローセルに移送される。そして、フローセル内では、測定試料がシース液(希釈液)によって取り囲まれた状態の液流が形成される。

10

【0036】

HGB測定部7は、メトヘモグロビン法により、血色素量(HGB)を測定するように構成されている。HGB測定部7は、図9に示すように、希釈試料を収容するセルを有しており、このセルにチャンバ22から測定試料が移送されるようになっている。そして、HGB測定部7は、波長が約555nmの光を照射する発光ダイオードを有しており、上記セル中の測定試料に発光ダイオードからの光を照射することによって、その吸光度を測定するように構成されている。なお、ヘモグロビンの測定を行う場合には、チャンバ22において、血液試料、希釈液および溶血剤100が混合され測定試料が調製される。

20

【0037】

制御部8は、CPU、ROM、RAMなどから構成されており、測定ユニット2の各部の動作制御を行うように構成されている。

【0038】

通信部9は、たとえば、RS-232Cインタフェース、USBインタフェース、Ethernet(登録商標)インタフェースであり、データ処理ユニット3との間でデータの送受信を行うことが可能なように構成されている。

【0039】

データ処理ユニット3は、図2に示すように、CPU31、ROM32、RAM33、ハードディスク34、通信インタフェース35、キーボードおよびマウスなどの入力部36、およびディスプレイ装置37を備えるコンピュータによって構成されている。データ処理ユニット3のハードディスク34には、オペレーティングシステムと、測定ユニット2から受信した測定データを分析処理するためのアプリケーションプログラムがインストールされている。

30

【0040】

ここで、本実施形態では、データ処理ユニット3のCPU31は、このアプリケーションプログラムを実行することにより、測定データを分析処理し、白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、血色素量(HGB)、ヘマトクリット値(HCT)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、血小板数(PLT)を算出するように構成されている。さらに、CPU31は、前方散乱光信号、側方散乱光信号、側方蛍光信号を用いてスキャッタグラムを作成して、白血球を好中球(Neut)、リンパ球、単球(Mono)、好酸球(Eo)、好塩基球(Baso)の5つに分類するように構成されている。

40

【0041】

通信インタフェース35は、たとえば、RS-232Cインタフェース、USBインタフェース、Ethernet(登録商標)インタフェースであり、測定ユニット2との間でデータの送受信を行うことが可能に構成されている。

【0042】

また、本実施形態における溶血剤100は、図10に示すように、2種類のカチオン性界面活性剤(ラウリルトリメチルアンモニウムクロライド; 34.1mM、ステアリルトリメチルアンモニウムクロライド; 1.7mM)を含み、かつ、標識物質を含んでいない

50

。また、この溶血剤100は、血液中のヘモグロビンをメトヘモグロビンへと転化する性質を有している。また、溶血剤100は、pHを約5～約7に保つためにリン酸緩衝液を含んでいる。これにより、マラリア原虫を赤血球内部に保持した状態で、後述する蛍光色素が細胞膜を透過できるように、赤血球の細胞膜を部分的に溶解することが可能となる。また、後述するように、各測定に用いられる各測定試料は、それぞれ、溶血剤100の希釈倍率、および、血液試料の希釈倍率が異なっている。このように2種類のカチオン性界面活性剤を用いることによって、組成が異なる2種類以上の溶血剤を用いることなく希釈倍率を変えるだけで、測定試料中の白血球を4つに分類し、かつ、マラリア感染赤血球の検出を行うことが可能である。

【0043】

また、本実施形態では、染色液は、図11に示す化学式の構造を有する蛍光色素（たとえば、Invitrogen社のヘキスト34580）と、実質的に赤血球の細胞膜を溶解するノニオン界面活性剤群のうちの1つとを含有している。この蛍光色素は、具体的には、DNA選択的蛍光色素であり、好ましくは、DNA選択的ビスベンズイミド系蛍光色素がよい。なお、DNA選択的蛍光色素とは、RNAよりもDNAを強く染色する蛍光色素であり、DNA選択的ビスベンズイミド系蛍光色素とは、骨格がビスイミド系のものである。このように、DNA選択的蛍光色素を用いることによって、核のない赤血球は染色されず、マラリア原虫のDNAが染色されるので、上記したフローサイトメータにより得られるスキャッタグラム（図17参照）から、容易に、内部にマラリア原虫を有するマラリア感染赤血球とマラリア感染赤血球以外の集団とを分類することが可能である。なお、この蛍光色素は、半導体レーザー光源52aから出射される青紫色レーザー光（波長が約405nm）により励起可能である。

【0044】

次に、図12～図17を参照して、本発明の一実施形態による血液分析装置1における試料分析処理について説明する。

【0045】

まず、血液分析装置1が起動されると、アプリケーションプログラムなどの初期化が行われた後、ステップS1において、データ処理ユニット3のCPU31により、ユーザからの測定開始指示があったか否かが判断され、指示があるまでこの判断が繰り返される。そして、測定開始指示があった場合には、ステップS2において、データ処理ユニット3から測定ユニット2に測定開始指示信号が送信される。

【0046】

そして、ステップS21において、測定ユニット2の制御部8により、測定開始指示信号が受信されたか否かが判断され、受信するまでこの判断が繰り返される。測定ユニット2が測定開始指示信号を受信すると、ステップS22において、ピペット21により、採血管セット部2aにセットされた採血管20から血液試料が吸引される。

【0047】

そして、ステップS23において、試料供給部4により、RBC/PLT測定試料（以下、第4測定試料という）が調製される。具体的には、図13に示すように、希釈液容器24から所定量（たとえば、2.0mL）の希釈液、および、ピペット21により採血管20から吸引された所定量（たとえば、6μL）の血液試料がチャンバ22に供給され、攪拌される。これにより、所定量（たとえば、2.0mL）の第4測定試料が調製される。その後、ステップS24において、チャンバ22内の第4測定試料の一部（たとえば、1mL）が、シース液（希釈液）とともにDC測定部6に移送されるとともに、DC測定部6により、第4測定試料のRBCおよびPLT検出が行われる。

【0048】

そして、ステップS25において、試料供給部4により、WBC（DC検出用）・HGB測定試料（以下、第3測定試料という）が調製される。具体的には、図13に示すように、所定量（たとえば、1mL）の第4測定試料が残存するチャンバ22に、溶血剤容器25から所定量（たとえば、0.5mL）の溶血剤100が供給され、攪拌される。すな

10

20

30

40

50

わち、チャンバ22において血液試料と希釈液とが混合された後、溶血剤100が混合されて第3測定試料が調製される。これにより、溶血剤100が3倍に希釈（溶血剤/希釈液 = 1/2）され、血液試料が500倍に希釈された第3測定試料が調製される。また、これにより、赤血球が溶血されるとともに、ヘモグロビンがメトヘモグロビンへと転化される。その後、ステップS26において、チャンバ22内の第3測定試料がDC測定部6に移送されて、第3測定試料のWBC測定が行われる。また、ステップS27において、第3測定試料がHGB測定部7に移送されて、第3測定試料のHGB検出が行われる。

【0049】

そして、ステップS28において、試料供給部4により、WBC（分類用）測定試料（以下、第1測定試料という）が調製される。具体的には、上記した第3測定試料に含まれるのと同じ溶血剤100が25倍に希釈（溶血剤/希釈液 = 1/24）された所定量（たとえば、1mL）の希釈溶血剤、および、採血管20から吸引された所定量（たとえば、10 μ L）の血液試料がチャンバ23に供給され、攪拌される。これにより、血液試料が100倍に希釈された第1測定試料が調製される。その後、ステップS29において、チャンバ23内の第1測定試料が、シース液（希釈液）とともにWBC分類測定部5に移送されるとともに、WBC分類測定部5により、第1測定試料のWBC検出が行われる。

【0050】

ここで、本実施形態では、ステップS30において、試料供給部4により、マラリア測定試料（以下、第2測定試料という）が調製される。具体的には、上記した第1測定試料に含まれるのと同じ溶血剤100が9倍に希釈（溶血剤/希釈液 = 1/8）された所定量（たとえば、1mL）の希釈溶血剤に、採血管20から吸引された所定量（たとえば、10 μ L）の血液試料、および、染色液容器26から所定量（たとえば、10 μ L）の染色液がチャンバ23に供給され、攪拌される。すなわち、チャンバ23において溶血剤100と希釈液とが混合された状態で、血液試料および染色液が混合される。これにより、溶血剤100は希釈液で希釈された状態で血液試料に混合されるので、血液試料が所望の濃度よりも高い濃度の溶血剤と混合されるのを抑制することが可能である。そして、血液試料が100倍に希釈された第2測定試料が調製される。このように、第2測定試料における溶血剤100の希釈倍率（9倍）を、第1測定試料における溶血剤100の希釈倍率（25倍）よりも小さくすることによって、測定試料中の赤血球を適度に溶血することができるので、精度よくマラリア感染赤血球の検出を行うことが可能となる。また、これにより、溶血剤容器25に収容された共通の溶血剤100を用いて、第1測定試料および第2測定試料の両方を調製することが可能となる。その後、ステップS31において、チャンバ23内の第2測定試料が、シース液（希釈液）とともにWBC分類測定部5に移送されるとともに、WBC分類測定部5により、第2測定試料のマラリア検出が行われる。そして、ステップS32において、各検出部において測定された測定データが、測定ユニット2からデータ処理ユニット3に送信される。

【0051】

データ処理ユニット3では、ステップS3において、測定ユニット2が送信した測定データが受信されたか否かが判断され、受信するまでこの判断が繰り返される。そして、測定データを受信すると、ステップS4において、CPU31により、ステップS26で測定されたWBC検出による測定データに基づいて、白血球数（WBC）が算出される。また、ステップS5において、CPU31により、WBC検出による測定データに基づいて、図14に示すように、白血球の粒度分布図が作成され、白血球数（WBC）に対するリンパ球比率が算出される。なお、リンパ球は、粒度分布図において、左から1つ目の山（集団）として現れる。

【0052】

次に、ステップS6において、CPU31により、ステップS29で測定されたWBC分類検出による測定データに基づいて、白血球がリンパ球と好塩基球との集団、単球および顆粒球（好中球と好酸球との集団）の3つに分類される。具体的には、CPU31は、前方散乱光信号および側方散乱光信号を用いて、図15に示すように、スキャッタグラム

10

20

30

40

50

を作成し、このスキヤッタグラムから、リンパ球と好塩基球との集団、単球および顆粒球（好中球と好酸球との集団）のそれぞれの白血球数（WBC）に対する比率を算出する。ここで、図22には、実際に被験者から採取した血液試料を、本実施形態における溶血剤（図10参照）を用いて測定し、その結果得られた前方散乱光信号および側方散乱光信号によるスキヤッタグラムを示す。図22に示すように、実際の測定結果においても、スキヤッタグラム上で、白血球をリンパ球と好塩基球との集団、単球および顆粒球（好中球と好酸球との集団）の3つに分類することが可能であることが分かる。

【0053】

そして、ステップS7において、CPU31により、WBC分類検出による測定データに基づいて、白血球が好酸球および好酸球以外の集団の2つに分類される。具体的には、CPU31は、前方散乱光信号および側方蛍光信号を用いて、図16に示すように、スキヤッタグラムを作成し、このスキヤッタグラムから、白血球数（WBC）に対する好酸球比率を算出する。この側方蛍光信号は、半導体レーザー光源52から出射された青紫色レーザー光（波長が約405nm）により励起された白血球の自家蛍光に基づくものであり、好酸球は、白血球の好酸球以外の集団よりも強い蛍光強度を有している。なお、CPU31は、側方散乱光信号および側方蛍光信号によるスキヤッタグラムから、白血球数（WBC）に対する好酸球比率を算出することも可能である。ここで、図23には、実際に被験者から採取した血液試料を、本実施形態における溶血剤（図10参照）を用いて測定し、その結果得られた前方散乱光信号および側方蛍光信号によるスキヤッタグラムを示す。図23に示すように、実際の測定結果においても、スキヤッタグラム上で、好酸球と好酸球以外の集団とに分類することが可能であることが分かる。

【0054】

その後、ステップS8において、CPU31により、ステップS6で算出された顆粒球（好中球と好酸球との集団）比率から、ステップS7で算出された好酸球比率を差し引くことによって、白血球数（WBC）に対する好中球比率が算出される。これにより、白血球がリンパ球と好塩基球との集団、単球、好中球および好酸球の4つに分類される。そして、ステップS9において、CPU31により、リンパ球と好塩基球との集団の比率から、ステップS5で算出されたリンパ球比率を差し引くことによって、白血球数（WBC）に対する好塩基球比率が算出される。これにより、白血球がリンパ球、好塩基球、単球、好中球および好酸球の5つに分類される。

【0055】

また、本実施形態では、ステップS10において、CPU31により、ステップS31で測定されたマラリア検出による測定データに基づいて、マラリア感染赤血球がマラリア感染赤血球以外の集団から分類される。具体的には、CPU31は、前方散乱光信号および側方蛍光信号を用いて、図17に示すように、スキヤッタグラムを作成し、このスキヤッタグラムから、マラリア感染赤血球をマラリア感染赤血球以外の集団から分類する。より具体的には、図17のスキヤッタグラムにおいて、マラリアに感染していない赤血球は蛍光強度の小さい領域に現れる一方、マラリア感染赤血球は比較的蛍光強度の大きい領域に現れる。また、白血球は、そのサイズおよびDNA量に起因して、蛍光強度および散乱光強度の両方が大きい領域に現れる。これにより、マラリア感染の有無を判断することが可能となる。

【0056】

次に、ステップS11において、CPU31により、ステップS24で測定されたRBC/PLT検出による測定データに基づいて、赤血球数（RBC）、血小板数（PLT）およびヘマトクリット値（HCT）が算出される。

【0057】

そして、ステップS12において、CPU31により、ステップS27で測定されたHGB検出による測定データに基づいて、血色素量（HGB）が算出される。すなわち、SLSヘモグロビン法を用いたHGB検出により得られた吸光度に基づいて、ヘモグロビン濃度が算出される。これにより、白血球を5つ（好中球、リンパ球、単球、好酸球および

10

20

30

40

50

好塩基球)に分類するために用いる測定試料と同じ第3測定試料を用いて、ヘモグロビン濃度を取得可能である。

【0058】

その後、ステップS13において、上記のように算出された赤血球数(RBC)、ヘマトクリット値(HCT)および血色素量(HGB)から、CPU31により、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)および平均赤血球血色素濃度(MCHC)が算出される。各値の算出式をそれぞれ以下の式(1)~(3)に示す。

【0059】

$$MCV = (HCT / RBC) \times 1000 \dots (1)$$

上記式(1)において、MCVは平均赤血球容積(fL)、HCTはヘマトクリット値(%)、RBCは赤血球数($\times 10^4 / \mu L$)をそれぞれ表す。

【0060】

$$MCH = (HGB / RBC) \times 1000 \dots (2)$$

上記式(2)において、MCHは平均赤血球血色素量(pg)、HGBは血色素量(g/dL)、RBCは赤血球数($\times 10^4 / \mu L$)をそれぞれ表す。

【0061】

$$MCHC = (HGB / HCT) \times 100 \dots (3)$$

上記式(3)において、MCHCは平均赤血球血色素濃度(g/dL)、HGBは血色素量(g/dL)、HCTはヘマトクリット値(%)をそれぞれ表す。

【0062】

そして、ステップS14において、上記のように算出された、白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、血色素量(HGB)、ヘマトクリット値(HCT)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、血小板数(PLT)の算出結果がディスプレイ装置37に出力される。さらに、白血球数(WBC)に対する好中球比率、リンパ球比率、単球比率、好酸球比率および好塩基球比率がディスプレイ装置37に出力されるとともに、マラリア検出の結果も出力される。なお、白血球数(WBC)に対する各血球比率に加えて、白血球数(WBC)および各血球比率に基づいて算出された好中球数、リンパ球数、単球数、好酸球数および好塩基球数が出力される。

【0063】

その後、ステップS15において、ユーザからのシャットダウン指示の有無が判断され、指示がない場合には、ステップS1に移行される。シャットダウン指示があった場合には、血液分析装置1における試料分析処理のデータ処理ユニット3の動作が終了される。また、測定ユニット2側では、ステップS32で測定データをデータ処理ユニット3に送信した後、ステップS33において、ユーザからのシャットダウン指示があったか否かが判断され、指示がない場合には、ステップS21に移行される。シャットダウン指示があった場合には、血液分析装置1における試料分析処理の測定ユニット2の動作が終了される。

【0064】

本実施形態では、上記のように、WBC分類測定部5により血液試料および溶血剤100を含む第1測定試料から生成された側方蛍光信号、前方散乱光信号および側方散乱光信号に基づいて、第1測定試料中の白血球を、少なくとも、単球と、好中球と、好酸球と、他の集団との4つに分類し、WBC分類測定部5により血液試料、前記溶血剤100と同じ溶血剤100、および染色剤を含む第2測定試料から生成された側方蛍光信号および前方散乱光信号に基づいて、第2測定試料中の血球をマラリア感染赤血球とマラリア感染赤血球以外の集団とに分類するCPU31を設けることによって、白血球を4つに分類するための溶血剤とマラリア感染赤血球を検出するための溶血剤とを共通化することができるので、白血球分類およびマラリア感染赤血球検出を行うために組成の異なる2種類の試薬(溶血剤)を開発する必要がない。これにより、試薬の開発に起因するユーザへの負担を軽減しながら、測定試料中の白血球を4つに分類し、かつ、マラリア感染赤血球の検出を

10

20

30

40

50

行うことができる。

【0065】

また、本実施形態では、DC測定部6により得られた測定データに基づいて、第3測定試料中の白血球をリンパ球とリンパ球以外の集団とに分類するとともに、この分類結果と上記した白血球の4分類の分類結果とに基づいて、測定試料中の白血球を、少なくとも、リンパ球と、好塩基球と、単球と、好中球と、好酸球との5つに分類するようにCPU31を構成することによって、白血球分類およびマalaria感染赤血球検出を行うための溶血剤と同じ溶血剤100を用いて、白血球をリンパ球とリンパ球以外の集団とに分類することができるので、組成の異なる溶血剤を別途開発することなく、測定試料中の白血球を5つに分類することができる。

10

【0066】

また、本実施形態による血液分析方法では、上記のように、WBC分類測定部5により血液試料および溶血剤100を含む第1測定試料から生成された側方蛍光信号、前方散乱光信号および側方散乱光信号に基づいて、第1測定試料中の白血球を、少なくとも、単球と、好中球と、好酸球と、他の集団との4つに分類するステップと、WBC分類測定部5により血液試料、前記溶血剤100と同じ溶血剤100、および染色剤を含む第2測定試料から生成された側方蛍光信号および前方散乱光信号に基づいて、第2測定試料中の血球をマalaria感染赤血球とマalaria感染赤血球以外の集団とに分類するステップとを設けることによって、白血球を4つに分類するための溶血剤とマalaria感染赤血球を検出するための溶血剤とを共通化することができるので、白血球分類およびマalaria感染赤血球検出を行うために組成の異なる2種類の試薬(溶血剤)を開発する必要がない。これにより、試薬の開発に起因するユーザへの負担を軽減しながら、測定試料中の白血球を4つに分類し、かつ、マalaria感染赤血球の検出を行うことができる。

20

【0067】

また、本実施形態による溶血剤を、上記のように、WBC分類測定部5により血液試料および溶血剤100を含む第1測定試料から生成された側方蛍光信号、前方散乱光信号および側方散乱光信号に基づいて、第1測定試料中の白血球を、少なくとも、単球と、好中球と、好酸球と、他の集団との4つに分類するステップと、WBC分類測定部5により血液試料、前記溶血剤100と同じ溶血剤100、および染色剤を含む第2測定試料から生成された側方蛍光信号および前方散乱光信号に基づいて、第2測定試料中の血球をマalaria感染赤血球とマalaria感染赤血球以外の集団とに分類するステップとを備えた血液分析方法に用いることによって、白血球を4つに分類するための溶血剤とマalaria感染赤血球を検出するための溶血剤とを共通化することができるので、白血球分類およびマalaria感染赤血球検出を行うために組成の異なる2種類の試薬(溶血剤)を開発する必要がない。これにより、試薬の開発に起因するユーザへの負担を軽減しながら、測定試料中の白血球を4つに分類し、かつ、マalaria感染赤血球の検出を行うことができる。

30

【0068】

また、本実施形態による染色剤を、上記のように、WBC分類測定部5により血液試料および溶血剤100を含む第1測定試料から生成された側方蛍光信号、前方散乱光信号および側方散乱光信号に基づいて、第1測定試料中の白血球を、少なくとも、単球と、好中球と、好酸球と、他の集団との4つに分類するステップと、WBC分類測定部5により血液試料、前記溶血剤100と同じ溶血剤100、および染色剤を含む第2測定試料から生成された側方蛍光信号および前方散乱光信号に基づいて、第2測定試料中の血球をマalaria感染赤血球とマalaria感染赤血球以外の集団とに分類するステップとを備えた血液分析方法に用いることによって、白血球を4つに分類するための溶血剤とマalaria感染赤血球を検出するための溶血剤とを共通化することができるので、白血球分類およびマalaria感染赤血球検出を行うために組成の異なる2種類の試薬(溶血剤)を開発する必要がない。これにより、試薬の開発に起因するユーザへの負担を軽減しながら、測定試料中の白血球を4つに分類し、かつ、マalaria感染赤血球の検出を行うことができる。

40

【0069】

50

(実施例)

次に、目視により得られたマラリア感染率と、上記実施形態に記載の方法（試薬は、上記実施形態に記載の試薬と同様のものを使用した）に基づいて得られたマラリア感染率との関係を以下の表1に示す。なお、目視による測定と上記実施形態に記載の方法による測定とは、複数の血液試料について、同じ検体について行った。

【0070】

【表1】

	目視 (%)	実施形態の方法 (%)
サンプル1	0.01	0.01
サンプル2	0.03	0.03
サンプル3	0.08	0.06
サンプル4	0.17	0.13

10

【0071】

表1に示すように、目視により得られたマラリア感染率と、上記実施形態に記載の方法に基づいて得られたマラリア感染率とは略一致しており、上記実施形態に記載の方法によれば、マラリア感染赤血球を精度よく検出できることを確認することができた。

20

【0072】

なお、目視によるマラリア感染率は、以下の式(4)により算出した。

【0073】

$$\text{マラリア感染率}(\%) = X / Y \times 100 \cdots \cdots (4)$$

上記式(4)において、Xは目視によりカウントされた所定数(=Y)の赤血球のうち、マラリアに感染していると決定された赤血球の数、Yは上記所定数をそれぞれ表す。なお、表1において、Yは、サンプル1および2については約10,000、サンプル3については約20,000、サンプル4については約30,000である。

【0074】

また、上記実施形態に記載の方法に基づいて得られたマラリア感染率は、以下の式(5)により算出した。

30

【0075】

$$\text{マラリア感染率}(\%) = (6) / (7) \times 100 \cdots \cdots (5)$$

上記式(5)において、(6)はA×B/C、(7)は同じ血液試料を多項目自動血球分析装置XE-2100(シスメックス株式会社製)で測定して得られた赤血球数をそれぞれ表す。なお、上記(6)のAは図17のマラリア領域内の血球数、Bは同じ血液試料を多項目自動血球分析装置XE-2100で測定して得られた白血球数、Cは図17の白血球領域内の血球数である。

【0076】

なお、今回開示された実施形態は、全ての点で例示であって制限的なものではないと考えられるべきである。本発明の範囲は、上記した実施形態の説明ではなく特許請求の範囲によって示され、さらに特許請求の範囲と均等の意味および範囲内での全ての変更が含まれる。

40

【0077】

たとえば、上記実施形態では、WBC検出、HGB検出、WBC分類検出およびマラリア検出に共通に用いられる溶血剤を収容する1つの、試薬容器としての溶血剤容器を試料供給部に接続する例を示したが、本発明はこれに限らず、各検出に用いる溶血剤をそれぞれ別々に収容するように4つの溶血剤容器を試料供給部に接続してもよいし、上記4つの検出のうち、いずれかに用いる溶血剤を共通の溶血剤容器に収容し、2つまたは3つの溶血剤容器を試料供給部に接続してもよい。また、5つ以上の溶血剤容器を試料供給部に接

50

続してもよい。この際、各溶血剤容器に収容する溶血剤を、それぞれ予め所定の希釈倍率に希釈しておけば、各検出に用いる測定試料を調製する際に、溶血剤を所望の希釈倍率に希釈するための工程を別途設ける必要がない。

【0078】

また、上記実施形態では、溶血剤の一例として、標識物質を含まない溶血剤を示したが、本発明はこれに限らず、溶血剤が標識物質を含んでいてもよい。

【0079】

また、上記実施形態では、WBC検出およびHGB検出に、WBC分類検出に用いる溶血剤と同じ溶血剤を用いる例を示したが、本発明はこれに限らず、WBC検出、HGB検出およびWBC分類検出にそれぞれ別々の専用の溶血剤を用いてもよい。

10

【0080】

また、上記実施形態では、試料分析処理において、早いものからRBC/PLT検出、WBC検出、HGB検出、WBC分類検出およびマラリア検出の順序で各検出処理を行う例を示したが、本発明はこれに限らず、試料分析処理において、上記以外の順序で各検出処理を行ってもよい。また、試料分析処理における、白血球分類処理、マラリア分類処理、赤血球数・血小板数算出処理、および、血色素量算出処理の順序も適宜変更可能である。

【0081】

また、上記実施形態では、青紫色半導体レーザー素子を有する半導体レーザー光源を設ける例を示したが、本発明はこれに限らず、青色半導体レーザー素子またはアルゴンレーザー素子など、青紫色半導体レーザー素子以外のレーザー素子を有する光源を設けてもよい。

20

【0082】

また、上記実施形態では、第2測定試料における溶血剤を9倍に希釈する構成の例を示したが、本発明はこれに限られない。また、第2測定試料における溶血剤は、9倍以上12倍以下に希釈することが好ましい。

【0083】

また、上記実施形態では、溶血剤の一例として、アルキルトリメチルアンモニウム塩であって、アルキル基の炭素数が12以上18以下であるカチオン性界面活性剤（ラウリルトリメチルアンモニウムクロライド；34.1mM、ステアリルトリメチルアンモニウムクロライド；1.7mM）を含む溶血剤を示したが、本発明はこれに限らず、カチオン性界面活性剤（上記実施形態では、ラウリルトリメチルアンモニウムクロライドとステアリルトリメチルアンモニウムクロライドの合計）のWBC（分類用）測定試料における濃度が、0.62mM以上2.15mM以下であれば、上記以外の濃度のカチオン性界面活性剤を含む溶血剤であってもよい。なお、上記実施形態では、溶血剤を25倍希釈して測定試料を調製しているため、カチオン性界面活性剤のWBC（分類用）測定試料における濃度が0.62mMになるときのカチオン性界面活性剤の溶血剤における濃度は15.5mMであり、カチオン性界面活性剤のWBC（分類用）測定試料における濃度が2.15mMになるときのカチオン性界面活性剤の溶血剤における濃度は53.75mMである。また、上記の溶血剤に代えて、アルキル基の炭素数が8以上10以下であるカチオン性界面活性剤を用いれば、カチオン性界面活性剤のWBC（分類用）測定試料における濃度が2.15mM以上であっても測定可能である。

30

40

【0084】

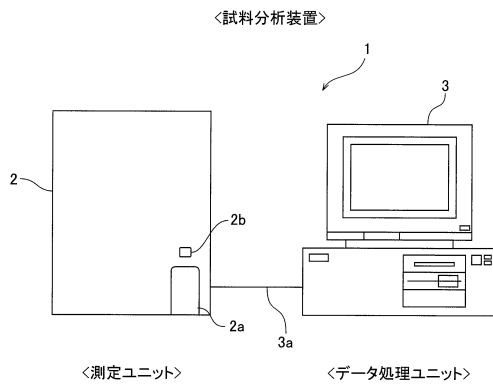
ここで、本発明の一実施形態による血液分析装置において、溶血剤におけるカチオン性界面活性剤の濃度を変動させた場合の実験結果について説明する。実験では、溶血剤におけるカチオン性界面活性剤の濃度が微量ずつ異なる複数の実験結果を得たが、ここでは、代表して、カチオン性界面活性剤のWBC（分類用）測定試料における濃度が2.15mMである溶血剤を用いた場合、および、カチオン性界面活性剤のWBC（分類用）測定試料における濃度が0.62mMである溶血剤を用いた場合の2つの実験結果について説明する。

【0085】

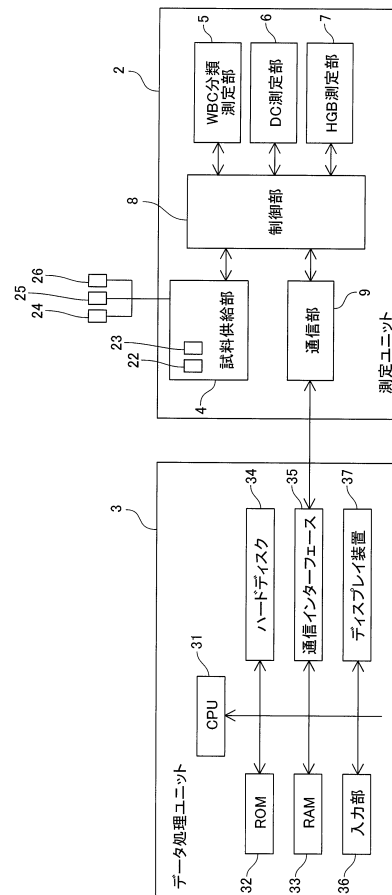
50

図18および図20に示すように、スキャッタグラム上で、白血球をリンパ球と好塩基球との集団、単球および顆粒球（好中球と好酸球との集団）の3つに分類することが可能である。また、図19および図21に示すように、スキャッタグラム上で、好酸球と好酸球以外の集団とに分類することが可能である。また、これらの分類結果から白血球を、リンパ球と好塩基球との集団、単球、好中球および好酸球の4つに分類することが可能である。したがって、カチオン性界面活性剤のWBC（分類用）測定試料における濃度が0.62mM以上2.15mM以下の範囲においては、白血球を4分類することが可能であると考えられる。

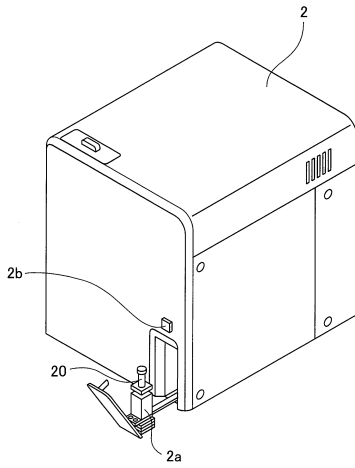
【図1】



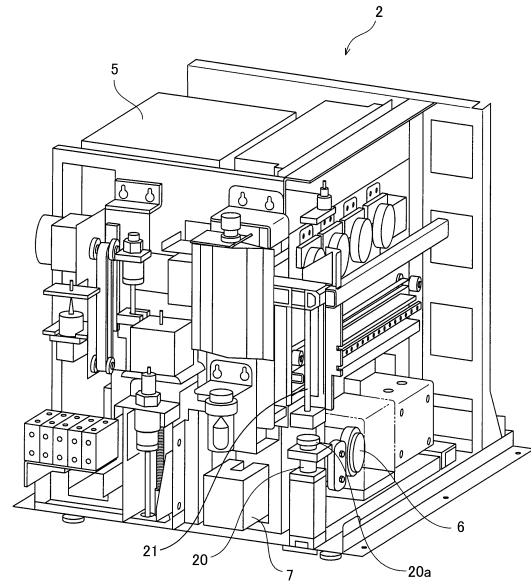
【図2】



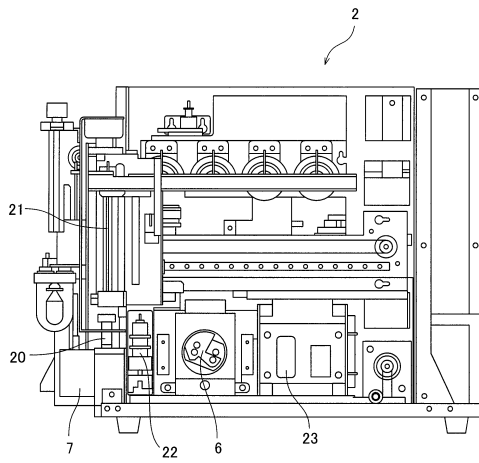
【図3】



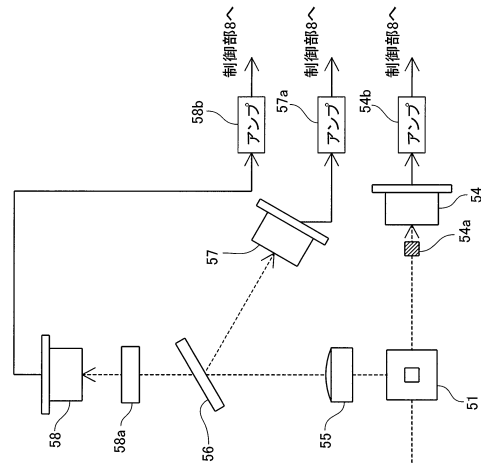
【図4】



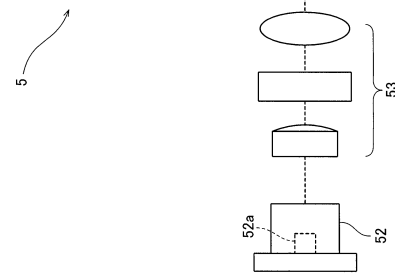
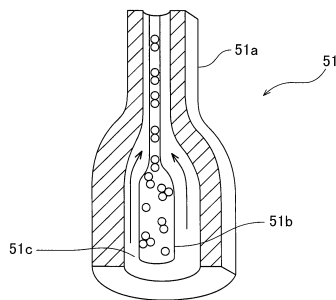
【図5】



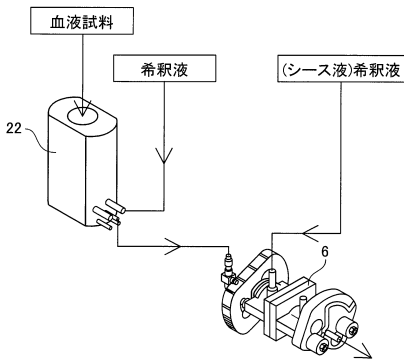
【図7】



【図6】



【図8】

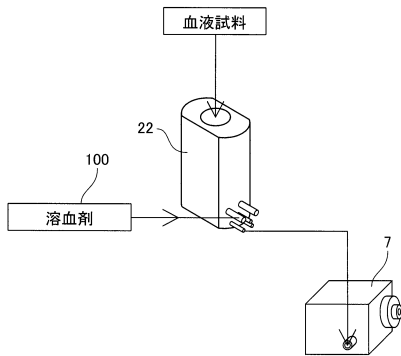


【図10】

溶血剤の組成

ラウリルトリメチルアンモニウムクロライド	34.1 mM
ステアリルトリメチルアンモニウムクロライド	1.7 mM
EDTA-2K	1.0 g/L
リン酸緩衝液	20 mM(pH 5.0)
NaCl	適量
(電気伝導度を約13mS/cmにする量)	
精製水	1 L

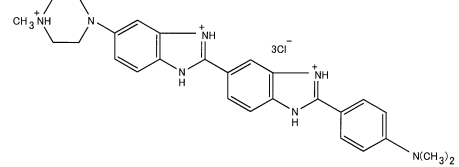
【図9】



【図11】

染色液(マラリア検出用)

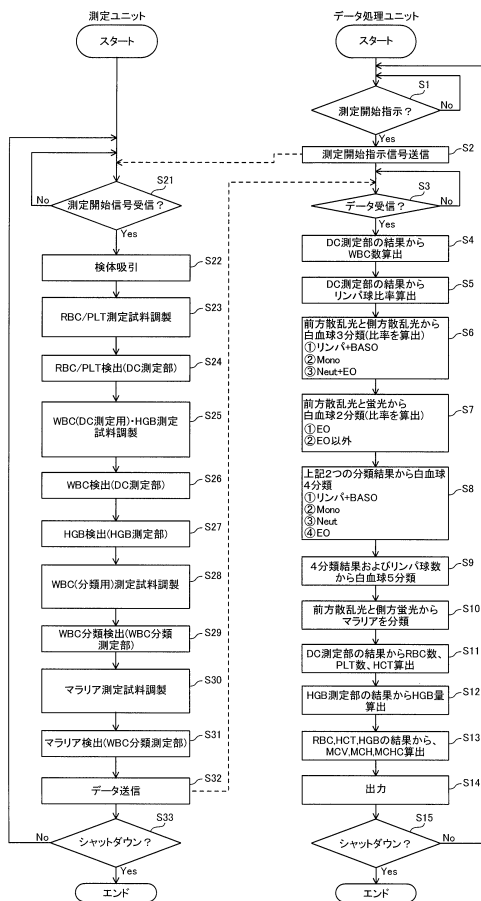
【蛍光色素の化学式】



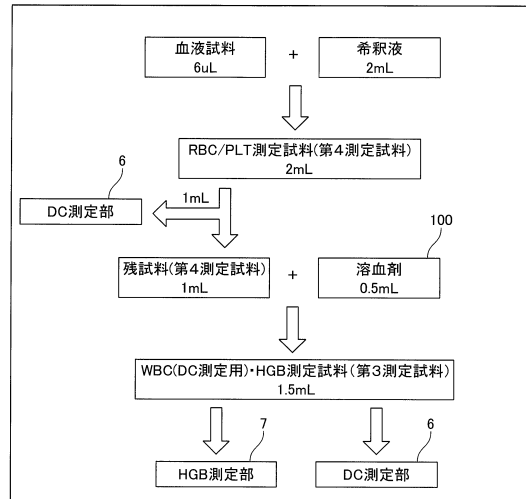
【ノニオン界面活性剤群】

- ポリオキシエチレンソルビタンモノイソステアリン酸エステル、
- ポリオキシエチレンソルビタンモノオレイン酸エステル、
- ポリオキシエチレン水素化ひまし油、
- ポリオキシエチレンフィトステロール、
- ポリオキシエチレンフィトスターール、
- ポリオキシエチレンラウリルエーテル、
- ポリオキシエチレンオレイルエーテル、
- ポリオキシエチレン・ポリオキシプロピレンジテトラシルエーテル、
- ポリオキシエチレン・ポリオキシプロピレンセチルエーテル、
- ポリオキシエチレンモノラウリン酸エステル

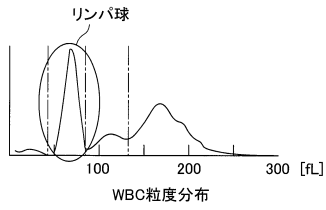
【図12】



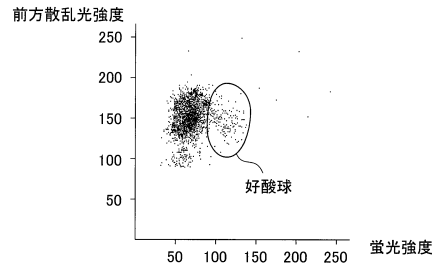
【図13】



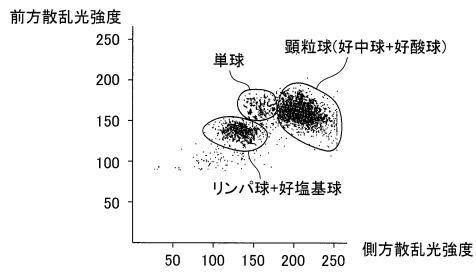
【図14】



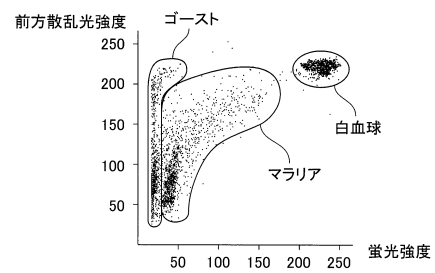
【図16】



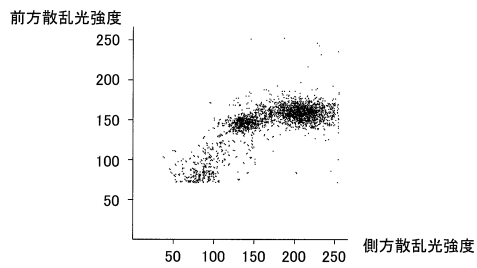
【図15】



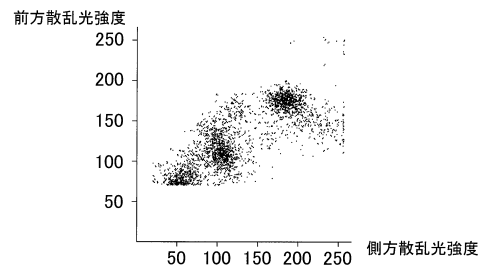
【図17】



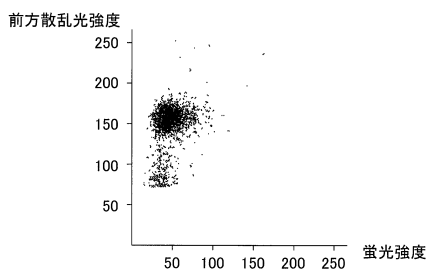
【図18】



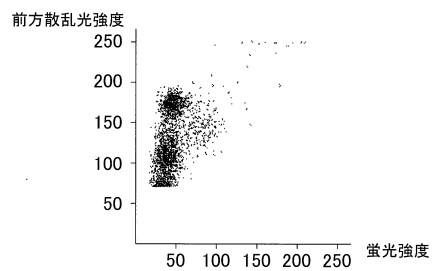
【図20】



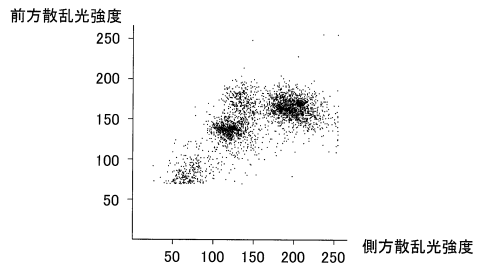
【図19】



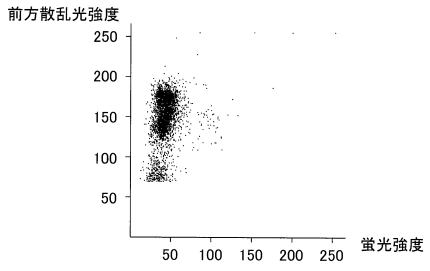
【図21】



【図 2 2】



【図 2 3】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
G 0 1 N 15/14 C

(72)発明者 小西 綾
日本国兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号 シスメックス株式会社内

(72)発明者 吉田 歩
日本国兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号 シスメックス株式会社内

審査官 三木 隆

(56)参考文献 特開2006-292738(JP,A)
特開2006-304774(JP,A)
特開2007-024844(JP,A)
特表2007-525674(JP,A)
特開2004-141150(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G 0 1 N 3 3 / 4 9
G 0 1 N 1 5 / 1 4
G 0 1 N 3 3 / 4 8
G 0 1 N 3 3 / 4 8 3
G 0 1 N 3 3 / 7 2