



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106018771 B

(45)授权公告日 2019.11.19

(21)申请号 201610146193.0

G01N 33/50(2006.01)

(22)申请日 2016.03.15

G01N 15/14(2006.01)

G01N 33/536(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 106018771 A

(43)申请公布日 2016.10.12

(30)优先权数据
2015-066845 2015.03.27 JP

(73)专利权人 希森美康株式会社
地址 日本兵库县神户市中央区脇浜海岸通
1丁目5番1号

(72)发明人 铃木裕义 樋口望

(74)专利代理机构 北京市安伦律师事务所
11339

代理人 杨永波

(51)Int.Cl.
G01N 33/49(2006.01)

(56)对比文件

CN 101389947 A, 2009.03.18, 权利要求1, 附图1, 说明书第9页第1段, 附图6b, 说明书第26页最后一段-27页第一段.

CN 101389947 A, 2009.03.18, 权利要求1, 附图1, 说明书第9页第1段, 附图6b, 说明书第26页最后一段-27页第一段.

CN 102016573 A, 2011.04.13, 权利要求1, 附图16, 说明书第54, 78段.

CN 104075981 A, 2014.10.01, 全文.

CN 101424692 A, 2009.05.06, 全文.

EP 2520926 A1, 2012.11.07, 全文.

审查员 于园园

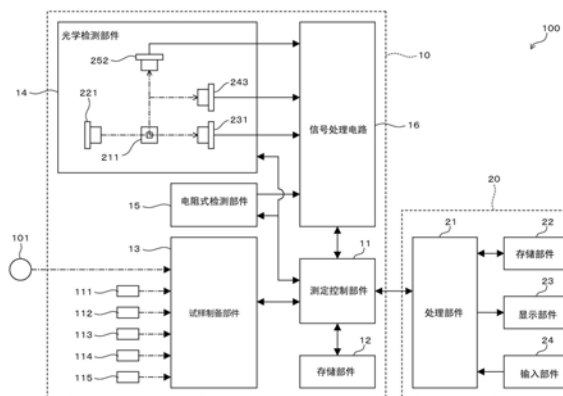
权利要求书2页 说明书11页 附图11页

(54)发明名称

血液分析装置及血液分析方法

(57)摘要

试样制备部件13在血液样本101中混入溶解红细胞的溶血剂112和标记在CD4阳性T细胞表面表达的CD4抗原的荧光标记抗体试剂113, 制备第一测定试样。光源部件221用光照射在流动室211流动的第一测定试样。受光部件231、243、252分别接受在光照下从第一测定试样中的血细胞获得的第一散射光、第二散射光和第一荧光。处理部件21用第一散射光信息和第二散射光信息分类并计数第一测定试样中的淋巴细胞, 用第一荧光信息分类并计数第一测定试样中的CD4阳性T细胞。



1. 一种血液分析装置,包括:

试样制备部件,其向血液样本中混合溶解红细胞的溶血剂和标记血细胞的一定表面抗原的荧光标记抗体试剂,制备第一测定试样;

流动室,其让通过所述试样制备部件制备的所述第一测定试样流动;

光源部件,其用光照射在所述流动室流动的所述第一测定试样;

受光部件,其分别接受在所述光照射下从所述第一测定试样中的血细胞中获得的第一散射光、第二散射光和第一荧光;

处理部件,其用基于所述第一散射光的第一散射光信息和基于所述第二散射光的第二散射光信息分类并计数所述第一测定试样中的淋巴细胞,用基于所述第一荧光的第一荧光信息分类并计数所述第一测定试样中具有所述一定表面抗原的血细胞;

其中,所述第一散射光是前向散射光,所述第二散射光是侧向散射光;

所述处理部件用基于所述前向散射光的所述第一散射光信息和基于所述侧向散射光的第二散射光信息的其中之一和基于所述第一荧光的所述第一荧光信息分类并计数所述第一测定试样中具有所述一定表面抗原的血细胞和嗜酸性粒细胞。

2. 根据权利要求1所述的血液分析装置,其特征在于:

所述处理部件用基于所述第一散射光的第一散射光信息和基于所述第二散射光的第二散射光信息进一步分类并计数所述第一测定试样中的单核细胞。

3. 根据权利要求1所述的血液分析装置,其特征在于:

所述处理部件用基于所述第一散射光的第一散射光信息和基于所述第二散射光的第二散射光信息进一步分类并计数所述第一测定试样中的粒细胞。

4. 根据权利要求1所述的血液分析装置,其特征在于:

所述处理部件用基于所述侧向散射光的第二散射光信息和基于所述第一荧光的第一荧光信息分类并计数所述第一测定试样中具有所述一定表面抗原的血细胞。

5. 根据权利要求1所述的血液分析装置,其特征在于:

具有所述一定表面抗原的血细胞是CD4阳性T细胞。

6. 根据权利要求1所述的血液分析装置,其特征在于:

具有所述一定表面抗原的血细胞是CD8阳性T细胞。

7. 根据权利要求1所述的血液分析装置,其特征在于:

具有所述一定表面抗原的血细胞是CD19阳性B细胞。

8. 根据权利要求1所述的血液分析装置,其特征在于:

所述装置具有显示信息的显示部件;

所述处理部件使所述显示部件显示基于所计数的具有所述一定表面抗原的血细胞数的信息。

9. 根据权利要求8所述的血液分析装置,其特征在于:

所述处理部件使所述显示部件显示基于所计数的所述淋巴细胞数的信息。

10. 根据权利要求8所述的血液分析装置,其特征在于:

所述处理部件使所述显示部件显示包含基于所计数的具有所述一定表面抗原的血细胞数的信息和基于所计数的所述淋巴细胞数的信息的界面。

11. 根据权利要求1所述的血液分析装置,其特征在于:

所述处理部件用所述第一荧光信息进一步对所述第一测定试样中的嗜酸性粒细胞进行分类并计数。

12. 根据权利要求11所述的血液分析装置,其特征在于:

所述处理部件根据粒细胞的计数情况和所述嗜酸性粒细胞的计数情况,计数所述第一测定试样中的嗜中性粒细胞。

13. 根据权利要求1所述的血液分析装置,其特征在于:

所述装置具有显示信息的显示部件;

所述试样制备部件在所述血液样本中混入溶解红细胞的溶血剂和染色疟原虫核酸的染色液,制备第二测定试样;

所述受光部件分别接受在所述光照射下从所述第二测定试样中的血细胞中获得的第三散射光和第二荧光;

所述处理部件用基于所述第三散射光的第三散射光信息和基于所述第二荧光的第二荧光信息分类并计数所述第二测定试样中的疟疾感染红细胞;

所述处理部件使所述显示部件显示所述疟疾感染红细胞的计数结果。

14. 根据权利要求1所述的血液分析装置,其特征在于:

所述光源部件照射400nm以上435nm以下的波长的光。

15. 一种血液分析方法,其特征在于:

在血液样本中混入溶解红细胞的溶血剂和标记血细胞的一定表面抗原的荧光标记抗体试剂,制备第一测定试样;

让所制备的所述第一测定试样流入流动室;

用光照射在所述流动室流动的所述第一测定试样;

分别检测在所述光照射下从所述第一测定试样中的血细胞中获得的所述第一散射光、第二散射光和第一荧光;

用基于所述第一散射光的所述第一散射光信息和基于所述第二散射光的第二散射光信息分类并计数所述第一测定试样中的淋巴细胞;

用基于所述第一荧光的第一荧光信息分类并计数所述第一测定试样中具有所述一定表面抗原的血细胞;

其中,所述第一散射光是前向散射光,所述第二散射光是侧向散射光;

用基于所述前向散射光的所述第一散射光信息和基于所述侧向散射光的第二散射光信息的其中之一和基于所述第一荧光的所述第一荧光信息分类并计数所述第一测定试样中具有所述一定表面抗原的血细胞和嗜酸性粒细胞。

血液分析装置及血液分析方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种计数血液样本中血细胞的血液分析装置及血液分析方法。

背景技术

[0002] 分析血液样本中所含细胞表面抗原的状态对疾病诊断是有效的。例如,在感染HIV(人类免疫缺陷病毒)的受检者中,随着病情的进展,血液中的CD4阳性T细胞数会有所减少。根据血液样本中的CD4阳性T细胞数量,可以诊断对HIV的感染和病情的进展。日本专利申请公开第2001-91513号中记载了一种方法,即使用识别白细胞的第一荧光标记抗体、识别随嗜中性粒细胞类细胞的成熟阶段而变化的抗原的第二荧光标记抗体、以及识别随幼稚粒细胞类细胞的成熟阶段而变化的抗原的第三荧光标记抗体,根据散射光强度和三种荧光,分类并计数成熟度不同的幼稚粒细胞。

[0003] 根据日本专利申请公开第2001-91513号所记述的方法,分类和计数细胞表面抗原时,必须准备各种荧光标记抗体试剂。测定前,还要在血液样本中混入以氯化铵(ammonium chloride)为基底的溶血剂,再通过离心分离除去红细胞和血小板,所以,为制备测定试样需要进行烦琐的前处理。因此,分类和计数细胞表面抗原的成本高,耗时长。

发明内容

[0004] 本发明的范围只由后附权利要求书所规定,在任何程度上都不受这一节发明内容的陈述所限。

[0005] 本发明第一形态涉及一种血液分析装置,其包括:试样制备部件,其向血液样本中混合溶解红细胞的溶血剂和标记血细胞的一定表面抗原的荧光标记抗体试剂,制备第一测定试样;流动室,其让通过试样制备部件制备的第一测定试样流动;光源部件,其用光照射在流动室流动的第一测定试样;受光部件,其分别接受在光照下从第一测定试样中的血细胞中获得的第一散射光、第二散射光和第一荧光;处理部件,其用基于第一散射光的第一散射光信息和基于第二散射光的第二散射光信息分类并计数第一测定试样中的淋巴细胞,用基于第一荧光的第一荧光信息分类并计数第一测定试样中具有一定表面抗原的血细胞。

[0006] 优选地,所述处理部件用基于所述第一散射光的第一散射光信息和基于所述第二散射光的第二散射光信息进一步分类并计数所述第一测定试样中的单核细胞。

[0007] 优选地,所述处理部件用基于所述第一散射光的第一散射光信息和基于所述第二散射光的第二散射光信息进一步分类并计数所述第一测定试样中的粒细胞。

[0008] 优选地,所述第一散射光是前向散射光;所述第二散射光是侧向散射光;所述处理部件用基于所述侧向散射光的第二散射光信息和基于所述第一荧光的第一荧光信息分类并计数所述第一测定试样中具有所述一定表面抗原的血细胞。

[0009] 优选地,具有所述一定表面抗原的血细胞是CD4阳性T细胞。

[0010] 优选地,具有所述一定表面抗原的血细胞是CD8阳性T细胞。

[0011] 优选地,具有所述一定表面抗原的血细胞是CD19阳性B细胞。

[0012] 优选地,所述装置具有显示信息的显示部件;所述处理部件使所述显示部件显示基于所计数的具有所述一定表面抗原的血细胞数的信息。

[0013] 优选地,所述处理部件使所述显示部件显示基于所计数的所述淋巴细胞数的信息。

[0014] 优选地,所述处理部件使所述显示部件显示包含基于所计数的具有所述一定表面抗原的血细胞数的信息和基于所计数的所述淋巴细胞数的信息的界面。

[0015] 优选地,所述处理部件用所述第一荧光信息进一步对所述第一测定试样中的嗜酸性粒细胞进行分类并计数。

[0016] 优选地,所述处理部件根据粒细胞的计数情况和所述嗜酸性粒细胞的计数情况,计数所述第一测定试样中的嗜中性粒细胞。

[0017] 优选地,所述装置具有显示信息的显示部件;所述试样制备部件在所述血液样本中混入溶解红细胞的溶血剂和染色疟原虫核酸的染色液,制备第二测定试样;所述受光部件分别接受在所述光照射下从所述第二测定试样中的血细胞中获得的第三散射光和第二荧光;所述处理部件用基于所述第三散射光的第三散射光信息和基于所述第二荧光的第二荧光信息分类并计数所述第二测定试样中的疟疾感染红细胞;所述处理部件使所述显示部件显示所述疟疾感染红细胞的计数结果。

[0018] 优选地,所述光源部件照射400nm以上435nm以下的波长的光。本发明第二形态涉及一种血液分析方法,其特征在于:在血液样本中混入溶解红细胞的溶血剂和标记血细胞的一定表面抗原的荧光标记抗体试剂,制备第一测定试样,让所制备的第一测定试样流入流动室,用光照射在流动室流动的第一测定试样,分别检测在光照下从第一测定试样中的血细胞中获得的第一散射光、第二散射光 and 第一荧光,用基于第一散射光的第一散射光信息和基于第二散射光的第二散射光信息分类并计数第一测定试样中的淋巴细胞,用基于第一荧光的第一荧光信息分类并计数第一测定试样中具有表面抗原的血细胞。

[0019] **【发明效果】**

[0020] 通过本发明,可以提供一种能在计数淋巴细胞的同时低成本短时间地分类并计数细胞表面抗原的血液分析装置和血液分析方法。

附图说明

[0021] 图1为实施方式1涉及的血液分析装置的结构框图;

[0022] 图2为实施方式1涉及的光学检测部件的结构示意图;

[0023] 图3为实施方式1涉及的血液分析装置进行处理的流程图;

[0024] 图4(a)、(b)为实施方式1涉及的基于第一测定的散点图,图4(c)为实施方式1涉及的基于第二测定的散点图;

[0025] 图5为实施方式1涉及的显示部件上显示的界面结构示意图;

[0026] 图6为验证实施方式1涉及的CD4阳性T细胞比率精度的示意图;

[0027] 图7(a)~(d)为实施方式1的变更例涉及的基于第一测定的散点图示意图;

[0028] 图8(a)~(d)为实施方式1的变更例涉及的基于第一测定的散点图示意图;

[0029] 图9(a)为实施方式2涉及的血液分析装置的部分结构的框图,图9(b)为实施方式2涉及的光学检测部件的部分结构的示意图;

[0030] 图10为实施方式2涉及的血液分析装置进行处理的流程图；

[0031] 图11为实施方式2涉及的显示部件上显示的界面结构示意图。

[0032] 优选实施方式

[0033] 下面将参照附图说明本发明的优选实施方式。

[0034] (实施方式1)

[0035] 如图1所示,血液分析装置100包括测定部件10和信息处理部件20。测定部件10包括测定控制部件11、存储部件12、试样制备部件13、光学检测部件14、电阻式检测部件15和信号处理电路16。信息处理部件20包括:处理部件21、存储部件22、显示部件23和输入部件24。

[0036] 测定控制部件11比如是CPU。测定控制部件11接受测定部件10各部件输出的信号,控制测定部件10各部件。测定控制部件11与信息处理部件20进行通讯。存储部件12是ROM、RAM和硬盘等。测定控制部件11根据存在存储部件12的程序实施处理。

[0037] 试样制备部件13上分别连接着稀释液111、溶血剂112、荧光标记抗体试剂113、溶血剂114和染色液115的容器。稀释液111也作为让测定试样流入光学检测部件14的流动室211和电阻式检测部件15的流动室的鞘液使用。

[0038] 溶血剂112溶解红细胞。溶血剂112含有0.94mM十二烷基三甲基氯化铵(Lauryltrimethylammonium Chloride)、0.13mM十八烷基三甲基氯化铵(Stearyltrimethylammonium chloride)、0.13g的BO-20SV、5mM柠檬酸(无水)、5mM(pH7.0)柠檬酸3Na₂水合物、适量(300mOsm)NaCl及净化水1L。

[0039] 荧光标记抗体试剂113标记血细胞的表面抗原。荧光标记抗体试剂113包含:在后述光源部件221射出的光的激发下发出一定波长荧光的荧光色素、以及与血细胞表面抗原结合的抗体。荧光标记抗体试剂113中含有的抗体与血细胞的表面抗原结合,以此,血细胞的表面抗原被标记。实施方式1涉及的荧光标记抗体试剂113中所包含的抗体是与CD4抗原结合的抗体。因此,在实施方式1中,存在于CD4阳性T细胞表面的CD4抗原被荧光标记抗体试剂113标记。

[0040] 溶血剂114溶解红细胞。溶血剂114含有34.1mM十二烷基三甲基氯化铵(Lauryltrimethylammonium Chloride)、1.7mM十八烷基三甲基氯化铵(Stearyltrimethylammonium chloride)、1.0g/L的EDTA-2K、20mM的pH5.0磷酸缓冲液、适量NaCl及净化水1L。染色液115不染色无核的红细胞,而染色疟原虫的核酸。

[0041] 试样制备部件13接受采自患者的末梢血——即血液样本101。试样制备部件13混合血液样本101、稀释液111、溶血剂112和荧光标记抗体试剂113,制备用于第一测定的第一测定试样。在第一测定试样的制备过程中,血液样本101中所含红细胞被溶解,血液样本101中所含CD4阳性T细胞的表面抗原被标记。试样制备部件13混合血液样本101、稀释液111、溶血剂114和染色液115,制备用于第二测定的第二测定试样。在第二测定试样的制备过程中,血液样本101中所含红细胞细胞膜部分溶解,感染疟疾红细胞内的疟原虫的核酸被染色液115染色。试样制备部件13混合血液样本101和稀释液111,制备用于第三测定的第三测定试样。

[0042] 在第一测定试样的制备中,也可以在改变稀释液111的稀释倍率的基础上,再用溶血剂114取代溶血剂112进行混合。此时,也可以溶解血液样本101中含有的红细胞。然而,如

上所述,使用溶血剂114更能提高第一测定的精度,因此,在第一测定试样的制备中使用溶血剂114比使用溶血剂112更佳。

[0043] 第一和第二测定试样通过流路送到光学检测部件14。第三测定试样通过流路送到电阻式检测部件15。

[0044] 光学检测部件14用流式细胞法根据第一测定试样进行第一测定,根据第二测定试样进行第二测定。光学检测部件14包括流动室211、光源部件221、受光部件231、243、252。流动室211在第一测定时流入第一测定试样,第二测定时流入第二测定试样。

[0045] 光源部件221在第一测定中用光照射在流动室211流动的第一测定试样,在第二测定中用光照射在流动室211流动的第二测定试样。当来自光源部件221的光照射到第一测定试样时,第一测定试样中的血细胞会产生第一散射光、第二散射光和第一荧光。来自光源部件221的光照射到第二测定试样时,第二测定试样中的血细胞会产生第三散射光、第四散射光和第二荧光。在第一测定中,受光部件231、243、252分别接受第一散射光、第二散射光 and 第一荧光。在第二测定中,受光部件231、243、252分别接受第三散射光、第四散射光 and 第二荧光。受光部件231、243、252向信号处理电路16输出基于分别接受的光的信号。关于光学检测部件14的详细结构,待后参照图2详细说明。

[0046] 电阻式检测部件15通过鞘流DC检测法基于第三测定试样进行第三测定。电阻式检测部件15向流入电阻式检测部件15流动室的第三测定试样施加电压,捕捉血细胞通过所引起的电压变化,检测血细胞。电阻式检测部件15向信号处理电路16输出检测信号。

[0047] 信号处理电路16根据受光部件231、243、252输出的信号提取血细胞相应的波形,算出波形的峰值、宽度和面积等。信号处理电路16将从基于第一散射光、第二散射光、第三散射光、第四散射光、第一荧光和第二荧光的信号获得的波形峰值分别作为第一散射光信息、第二散射光信息、第三散射光信息、第四散射光信息、第一荧光信息和第二荧光信息输出到测定控制部件11。信号处理电路16根据从电阻式检测部件15输出的信号提取血细胞相应波形,将波形峰值作为血细胞信息输出到测定控制部件11。

[0048] 测定控制部件11将第一~第三测定时信号处理电路16输出的信息存入存储部件12。第一~第三测定结束后,测定控制部件11将存入存储部件12的信息作为测定数据输送到信息处理部件20。

[0049] 处理部件21比如是CPU。处理部件21接受信息处理部件20各部件输出的信号,控制信息处理部件20的各部件。处理部件21与测定部件10进行通讯。存储部件22是ROM、RAM和硬盘等。处理部件21根据存在存储部件22的程序实施处理。

[0050] 处理部件21用第一散射光信息和第二散射光信息将第一测定试样中的血细胞至少分类为淋巴细胞、单核细胞和粒细胞并计数。处理部件21用第一荧光信息和第二散射光信息对第一测定试样中的CD4阳性T细胞进行分类并计数。处理部件21用第一荧光信息和第二散射光信息对第一测定试样中的嗜酸性粒细胞进行分类并计数。粒细胞由嗜中性粒细胞和嗜酸性粒细胞构成,所以,处理部件21根据粒细胞的分类和嗜酸性粒细胞的分类,分类第一测定试样中的嗜中性粒细胞并计数。处理部件21用第三散射光信息和第二荧光信息,计数第二测定试样中的疟疾感染红细胞。处理部件21用血细胞信息计数第三测定试样中的红细胞和血小板。关于处理部件21的详细处理待后参照图3详细说明。

[0051] 显示部件23为显示信息的显示屏,输入部件24为鼠标和键盘。处理部件21将测定

结果存入存储部件22,并将其显示在显示部件23上。处理部件21通过输入部件24接受来自操作者的指示。

[0052] 如图2所示,光学检测部件14包括鞘流系统210、射束点形成系统220、前向散射光受光系统230、侧向散射光受光系统240和荧光受光系统250。光学检测部件14的光学系统除了图2所示结构外还可适当变更。

[0053] 鞘流系统210有流动室211。流动室211由具有透光性的材料制成,形状为管状。第一和第二测定试样在被鞘液包裹的状态下流入流动室211内。第一和第二测定试样所含粒子在排成一系列的状态下从流动室211内通过。

[0054] 射束点形成系统220使从光源部件221射出的光通过准直镜222和聚光镜223并照射在流动室211内流动的第一和第二测定试样。光源部件221是半导体激光光源。从光源部件221射出的光是蓝色波长带域的激光。从光源部件221射出的光的波长设定为400nm以上435nm以下。在实施方式1中,光源部件221射出的光的波长约为405nm。

[0055] 如上所述,当光照第一测定试样时,从第一测定试样中的血细胞产生第一散射光、第二散射光和第一荧光。当光照第二测定试样时,从第二测定试样中的血细胞产生第三散射光、第四散射光和第二荧光。在实施方式1中,第一和第三散射光是前向散射光,第二和第四散射光是侧向散射光。前向散射光反映粒子大小的相关信息,侧向散射光反映粒子内部信息,荧光反映粒子染色程度。照射到流动室211的光中,未照射到粒子而透过流动室211的光被束霖止器224遮断。

[0056] 前向散射光受光系统230通过受光部件231接受第一和第三散射光。受光部件231是光电二极管。受光部件231输出与接受的第一和第三散射光强度相应的电信号。侧向散射光受光系统240通过侧向聚光镜241使第二和第四散射光聚光,用分色镜242使其反射,由受光部件243接受。受光部件243是光电二极管。受光部件243输出与接受的第二和第四散射光强度相应的电信号。

[0057] 荧光受光系统250让通过侧向聚光镜241聚光的、且透过分色镜242的第一和第二荧光通过分光过滤器251,由受光部件252接受。从第一和第二测定试样产生的荧光被受光部件252接受。具体而言,从嗜酸性粒细胞产生的内源性荧光、从荧光标记抗体试剂113产生的荧光和从染色液115产生的荧光均透过分色镜242和分光过滤器251,被受光部件252接受。受光部件252是雪崩光电二极管。受光部件252输出与所接受的荧光强度相应的电信号。

[0058] 下面参照图3的流程图就血液分析装置100的处理进行说明。

[0059] 如图3所示,测定控制部件11在步骤S101~S106控制试样制备部件13进行测定试样的制备,控制光学检测部件14和电阻式检测部件15进行测定。具体而言,在步骤S101,制备第一测定试样,在步骤S102,通过光学检测部件14进行第一测定。在步骤S103,制备第二测定试样,在步骤S104,通过光学检测部件14进行第二测定。在步骤S105,制备第三测定试样,在步骤S106,通过电阻式检测部件15进行第三测定。通过第一~第三测定获得的第一~第四散射光信息和第一、第二荧光信息存入测定部件10的存储部件12中。

[0060] 在步骤S107,测定控制部件11将第一~第三测定中获得的信息作为测定数据传送到信息处理部件20。在步骤S201,处理部件21从测定部件10接收到测定数据后,实施步骤S202以下的处理。

[0061] 在步骤S202,处理部件21分类并计数三种白细胞,即淋巴细胞、单核细胞和粒细

胞。具体而言,处理部件21根据第一散射光信息和第二散射光信息,绘制图4(a)所示散点图310,在散点图310设定区域311~313。在散点图310,纵轴表示第一散射光信息,横轴表示第二散射光信息。区域311~313分别是被认为包含淋巴细胞、单核细胞和粒细胞的区域。

[0062] 接着,处理部件21将区域311~313中所含的粒子分别分类为淋巴细胞、单核细胞和粒细胞。处理部件21通过计数区域311~313中所含的粒子,获取淋巴细胞、单核细胞和粒细胞的数量。处理部件21通过合计淋巴细胞、单核细胞和粒细胞的数量,获得白细胞的数量。

[0063] 在步骤S202,为便于说明,绘制散点图310,在散点图310设定区域311~313。然而,不一定要绘制散点图310和设定区域311~313,也可以通过数据处理对区域311~313所含的粒子进行分类和计数。

[0064] 在后述处理中也同样。即,在步骤S203也并非一定要绘制散点图320和设定区域321、322,区域321、322所含的粒子也可以通过数据处理进行分类和计数。在步骤S206,也并非一定要绘制散点图330和设定区域331~333,区域331~333的粒子也可以通过数据处理进行分类和计数。在后述实施方式2的步骤S211中也并非一定要绘制图7(b)所示散点图320和设定区域321、322,区域321、322所含的粒子也可以通过数据处理进行分类和计数。

[0065] 在步骤S202,也可以绘制以第一散射光信息、第二散射光信息和荧光信息为三轴的散点图。如此,在步骤S202设定的被认为含有淋巴细胞、单核细胞和粒细胞的区域、以及在后述步骤S203设定的被认为含有嗜酸性粒细胞和CD4阳性T细胞的区域可以针对一个散点图设定。

[0066] 在步骤S203,处理部件21分类和计数嗜酸性粒细胞和CD4阳性T细胞。具体而言,处理部件21根据第二散射光信息和第一荧光信息,绘制图4(b)所示散点图320,在散点图320中设定区域321、322。在散点图320,纵轴表示第二散射光信息,横轴表示第一荧光信息。区域321、322分别为被认为含有嗜酸性粒细胞和CD4阳性T细胞的区域。

[0067] 在此,嗜酸性粒细胞发出内源荧光。因此,相应于嗜酸性粒细胞的粒子在散点图320中分布在比其他粒子荧光强的位置。CD4阳性T细胞的表面抗原在第一测定试样的制备中已被荧光标记抗体试剂113标记。因此,CD4阳性T细胞在散点图320中也分布在比其他粒子荧光强的位置。嗜酸性粒细胞和CD4阳性T细胞之间反映粒子内部信息的值、即第二散射光信息的值不同。据此就能在散点图320设定与嗜酸性粒细胞相应的区域321和与CD4阳性T细胞相应的区域322。散点图320的纵轴被作为第二散射光信息,但它也可以是粒子大小相关信息、即第一散射光信息。

[0068] 接着,处理部件21分别将区域321、322中所含的粒子分类为嗜酸性粒细胞和CD4阳性T细胞。处理部件21通过对区域321、322中所含的粒子进行计数,获取嗜酸性粒细胞和CD4阳性T细胞的数量。

[0069] 如上所述,通过一次测定即可进行淋巴细胞、单核细胞和粒细胞的分类与计数以及嗜酸性粒细胞和CD4阳性T细胞的分类与计数。即,根据第一测定试样在流动室211流动一次期间获得的光学信息即可进行这些血细胞的分类和计数。因此能够快速进行分类和计数。

[0070] 如上所述,通过试样制备部件13用血液样本101制备第一测定试样,制备的第一测定试样由光学检测部件14测定。因此,不必为CD4阳性T细胞的分类与计数进行复杂的前处理,从而得以以低成本短时间对CD4阳性T细胞进行分类与计数。不需要操作者进行前处理,

从而能够防止CD4阳性T细胞的分类与计数结果参差不齐。

[0071] 无需为获取CD4阳性T细胞的数量而分别准备用于求白细胞数量的装置和用于求CD4阳性T细胞比率的装置。即不必通过用求白细胞数量的装置获得的白细胞数乘以用求CD4阳性T细胞比率的装置获得的CD4阳性T细胞比率来获取CD4阳性T细胞的数量。通过使用血液分析装置100,能够仅用一台装置获得CD4阳性T细胞的数量。

[0072] 已知HIV感染者CD4阳性T细胞数会减少。因此,获取的CD4阳性T细胞数可以用于辅助对HIV感染和病情的诊断。根据图4(b)的区域322能够对CD4阳性T细胞准确分类,所以能够获得高精度的CD4阳性T细胞数。因此,将CD4阳性T细胞数用于辅助诊断时,能够提高诊断精度。此外,CD4阳性T细胞数会有所增减的疾病也可以用获取的CD4阳性T细胞数帮助诊断。

[0073] 在步骤S204,处理部件21分类和计数嗜中性粒细胞。具体而言,处理部件21从步骤S202获取的粒细胞分类中减去步骤S203获得的嗜酸性粒细胞分类,由此分类嗜中性粒细胞。即,处理部件21从在步骤S202被视为粒细胞的散点图310上的粒子中去除在步骤S203被视为嗜酸性粒细胞的粒子,由此在散点图310上设定被认为含有嗜中性粒细胞的区域。处理部件21在散点图310上计数被认为含有嗜中性粒细胞的区域中所含粒子数,以此获取嗜中性粒细胞的数量。嗜中性粒细胞数也可以通过从粒细胞数减去嗜酸性粒细胞数来获得。

[0074] 已知HIV感染者嗜中性粒细胞数会减少。因此,在CD4阳性T细胞数的基础上再使用获取的嗜中性粒细胞数,由此就能更细致地对HIV感染和病情进行诊断。此外,嗜中性粒细胞数会有所增减的疾病也可以用获取的嗜中性粒细胞数来辅助诊断。

[0075] 在步骤S205,处理部件21算出各白细胞的比率——即淋巴细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞及CD4阳性T细胞的比率。具体而言,处理部件21用在步骤S202~S204获得的淋巴细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞和嗜酸性粒细胞数除以在步骤S202获取的白细胞数,由此分别算出淋巴细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞和嗜酸性粒细胞的比率。处理部件21将在步骤S203获得的CD4阳性T细胞数除以在本步骤S205获得的淋巴细胞数,由此算出CD4阳性T细胞比率。

[0076] 在步骤S206,处理部件21分类并计数疟疾感染红细胞和白细胞。具体而言,处理部件21根据第三散射光信息和第二荧光信息,绘制图4(c)所示散点图330,在散点图330中设定区域331~333。在散点图330,纵轴表示第三散射光信息,横轴表示第二荧光信息。区域331~333分别为被认为含有疟疾感染红细胞、白细胞和血影的区域。区域333的血影含有未感染疟疾的红细胞。然后,处理部件21将区域331、332中所含有的粒子分别分类为疟疾感染红细胞和白细胞。处理部件21通过计数区域331、332中所含粒子,获取疟疾感染红细胞和白细胞数。

[0077] 因能够获得疟疾感染红细胞数,故能够判断受检者是否患疟疾、能够判断正在接受治疗的受检者是否疟疾已完全治愈。用后述的疟疾感染红细胞比率也能做这些判断。根据CD4阳性T细胞和疟疾感染红细胞数,能够诊断HIV、结核和疟疾这所谓的三大感染病中的二种疾病、即HIV和疟疾。而且,疟疾感染红细胞的测定可以通过测定白细胞的检测部件即光学检测部件14进行,由此得以简化血液分析装置100的结构。

[0078] 在步骤S207,处理部件21获取各白细胞的数目、即淋巴细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和CD4阳性T细胞的数目。具体而言,处理部件21用在步骤S205获取的淋巴细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞和嗜酸性粒细胞的比率乘以在步骤S206获取的白细胞数,

由此分别算出淋巴细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞和嗜酸性粒细胞数。处理部件21用在步骤S205获取的CD4阳性T细胞比率乘以在本步骤S207获取的淋巴细胞数，由此算出CD4阳性T细胞数。在步骤S207获取的血细胞数用于后述界面400的显示。

[0079] 在步骤S207，用在步骤S206获取的白细胞数乘以在步骤S205获取的比率，由此获取各白细胞数。然而，不限于此，也可以通过用其他测定试样进行的其他测定获取白细胞数，再用通过其他测定获取的白细胞数在步骤S207获取各白细胞数。

[0080] 其他测定比如也可以是用于分类和计数有核红细胞和白细胞的测定。此时，试样制备部件13混合血液样本101、其他溶血剂和其他染色液，以此制备其他测定试样。在制备其他测定试样时，红细胞被溶解，有核红细胞和白细胞的核酸和细胞器被染色。其他测定试样与第一和第二测定试样同样地流入流动室211。用光进行照射，根据其他测定试样中的血细胞产生的前向散射光和荧光绘制散点图。在绘制的散点图上设定区域，以此进行有核红细胞和白细胞的分类和计数。

[0081] 在步骤S208，处理部件21根据通过第三测定获得的血细胞信息对红细胞和血小板数量进行计数，算出血细胞比容值。

[0082] 在步骤S209，处理部件21算出疟疾感染红细胞的比率。具体而言，处理部件21首先将在步骤S206获得的疟疾感染红细胞数和在步骤S208获得的红细胞数换算成与同一容量相对应的值。比如，此二个数据换算成1 μ L血液样本101中所含的个数。然后，处理部件21用调整单位后的疟疾感染红细胞数除以调整单位后的红细胞数，由此算出比率。

[0083] 在步骤S210，处理部件21在显示部件23上显示界面400，该界面400中包括通过处理部件21的处理获得的血细胞数等。至此，血液分析装置100的处理结束。

[0084] 如图5所示，界面400上有列表401、402和图4(a)~(c)所示散点图310~330。

[0085] 在列表401、402，单位为“ $10^2/\mu\text{L}$ ”或“ $10^4/\mu\text{L}$ ”的数据显示了一定量血液样本101中所含的血细胞数。列表401从上向下依次显示在步骤S206获得的白细胞数、在步骤S208获得的红细胞数、血细胞比容值和血小板数、在步骤S206获得的疟疾感染红细胞数、以及在步骤S209获得的疟疾感染红细胞比率。列表402从上向下依次显示在步骤S207获得的嗜中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞和CD4阳性T细胞数、在步骤S205获得的嗜中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞和CD4阳性T细胞比率。

[0086] 列表401中显示的白细胞数也可以是在步骤S202获取的白细胞数，列表402中显示的淋巴细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和CD4阳性T细胞数也可以是在步骤S202~S204获得的各血细胞数。但是，在步骤S206获得的白细胞数和在步骤S207获得的各血细胞数比在步骤S202~S204获得的数精度可能更高。因此，列表401中显示的白细胞数最好如上所述是在步骤S206获得的白细胞数，列表402中显示的血细胞数最好如上所述是在步骤S207获得的血细胞数。

[0087] 显示部件23上显示淋巴细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和CD4阳性T细胞及疟疾感染红细胞的数量和比率，因此操作者能够直观地掌握这些数值。这些数值显示在一个界面400上，因此操作者能够方便地比较显示的数值。

[0088] 下面验证实际获取的CD4阳性T细胞比率的精度。

[0089] 在此验证中，根据采自不同受检者的15份血液样本，对实施方式1获取的CD4阳性T细胞比率与比较例获取的CD4阳性T细胞比率进行比较。在比较例中，对血液样本进行前处

理,用通用的流式细胞装置测定前处理后的血液样本。

[0090] 图6的纵轴表示实施方式1获取的CD4阳性T细胞比率。图6的横轴是比较例获得的CD4阳性T细胞比率。图6的图形中,以实施方式1获取的比率和比较例获取的比率为参数,点绘出15份血液样本相应的点。在图6的图形中,显示了15份血液样本相应的点的近似直线。图6中显示了以横轴为x,纵轴为y时的近似直线式及实施方式1获取的比率与比较例获取的比率的相关系数r的值。近似直线的倾斜和相关系数的值都越接近1,则实施方式1获取的比率和比较例获取的比率的相关性就越高。

[0091] 如图6所示,实施方式1获取的比率和比较例获取的比率的相关性很高。因此,可以说实施方式1获取的CD4阳性T细胞比率与比较例有着同等程度的精度。

[0092] (实施方式1的变更例)

[0093] 在实施方式1,荧光标记抗体试剂113中所含的抗体是与CD4抗原结合的抗体,但不限于此,其也可以是和其他抗原结合的抗体。比如,荧光标记抗体试剂 113中所含的抗体也可以是与CD3抗原、CD8抗原、CD14抗原、CD19抗原、CD45抗原等结合的抗体。

[0094] 当荧光标记抗体试剂 113中所含的抗体是与CD8抗原结合的抗体时,在CD8阳性T细胞表面表达的CD8抗原被荧光标记抗体试剂 113标记。此时根据制备的第一测定试样进行第一测定,则会绘制出图7(a)、(b)所示散点图310、320。此时,也能够设定区域311~313、321,因此能够进行与实施方式1同样的白细胞分类。在图7(b)中,区域322是被认为包含CD8阳性T细胞的区域。因此,能够进行CD8阳性T细胞的分类与计数。

[0095] 一般来着,随着HIV病情的进展,CD4阳性T细胞和CD8阳性T细胞的数量之比会发生变化。因此,获取的CD8阳性T细胞数可以用于辅助诊断对HIV的感染和诊断病情。另外,根据图7(b)的区域322可以正确分类CD8阳性T细胞,从而能够获得精度高的CD8阳性T细胞数。因此,将CD8阳性T细胞数用于辅助诊断时,能够提高诊断精度。关于通过一次测定获得CD4阳性T细胞和CD8阳性T细胞的数量之比的过程将在实施方式2追述。

[0096] 当荧光标记抗体试剂113中所含抗体是与CD19抗原结合的抗体时,在CD19阳性B细胞表面表达的CD19抗原被荧光标记抗体试剂 113标记。此时也同实施方式1一样,可以根据散点图310、320的区域311~313、321进行白细胞分类。此外,在散点图320可以设定包含CD19阳性B细胞的区域322,因此,能够进行CD19阳性B细胞的分类与计数。

[0097] CD19阳性B细胞是产生抗体的细胞,CD19阳性B细胞越多,出现的免疫球蛋白就越多,因此可以说CD19阳性B细胞数具有很高临床意义。因此,可以用获取的CD19阳性B细胞数辅助诊断病情。

[0098] 此外,荧光标记抗体试剂113中所含抗体分别是与CD3抗原、CD14抗原和CD45抗原结合的抗体时,也可以如图7(c)、(d)、图8(a)~(d)所示对血细胞进行分类和计数。

[0099] 当荧光标记抗体试剂113中所含抗体是与CD3抗原结合的抗体时,在CD3阳性T细胞表面表达的CD3抗原被荧光标记抗体试剂 113标记。此时,根据制备的第一测定试样进行第一测定,则绘制出图7(c)、(d)所示散点图310、320。此时,也能设定区域311~313、321,故也可以与实施方式1同样地进行白细胞分类。在图7(d),区域322是被认为含有CD3阳性T细胞的区域。因此,能够对CD3阳性T细胞进行分类和计数。

[0100] 当荧光标记抗体试剂113中所含抗体是与CD14抗原结合的抗体时,在单核细胞表面表达的CD14抗原被荧光标记抗体试剂 113标记。此时,根据制备的第一测定试样进行第

一测定,则绘制出图8(a)、(b)所示散点图310、320。此时,也能设定区域311~313、321,故也能够与实施方式1同样地进行白细胞分类。在图8(b),区域322是被认为含有单核细胞的区域。因此,用散点图320也能分类并计数单核细胞。

[0101] 当荧光标记抗体试剂113中所含抗体是与CD45抗原结合的抗体时,在白细胞表面表达的CD45抗原被荧光标记抗体试剂 113标记。CD45抗原是白细胞共有的表面抗原。此时,根据制备的第一测定试样进行第一测定,则绘制出图8(c)、(d)所示散点图310、320。此时,从嗜酸性粒细胞产生内源荧光和荧光标记抗体试剂 113所引起的荧光,因此,与实施方式1相比,区域321的位置向第一荧光大的方向移动。此时,也能设定区域311~313、321,故也能够与实施方式1同样地进行白细胞分类。此外,在图8(d),被认为含有白细胞的区域322也能设定为对应于所有的白细胞。因此,用散点图320也能分类并计数所有白细胞。

[0102] (实施方式2)

[0103] 如图9(a)所示,在实施方式2,与实施方式1相比,试样制备部件13连接着装荧光标记抗体试剂116的容器。荧光标记抗体试剂116与荧光标记抗体试剂113同样地用于标记血细胞的表面抗原。荧光标记抗体试剂116含有在光源部件221射出的光激发下发出与荧光标记抗体试剂113不同波长荧光的荧光色素、以及与血细胞表面抗原结合的抗体。实施方式2的荧光标记抗体试剂116所含抗体是与CD8抗原结合的抗体。因此,在实施方式2,在CD8阳性T细胞表面表达的CD8抗原被荧光标记抗体试剂116标记。

[0104] 荧光标记抗体试剂116所含抗体也可以是与CD4抗原和CD8抗原以外的抗原结合的抗体。

[0105] 在实施方式2,在制备第一测定试样时再混入荧光标记抗体试剂116。即,试样制备部件13混合血液样本101、稀释液111、溶血剂112和荧光标记抗体试剂113、116,制备第一测定试样。以此,除了血液样本101中所含CD4阳性T细胞表面抗原外,还标记血液样本101中所含CD8阳性T细胞表面抗原。

[0106] 如图9(b)所示,在实施方式2,与实施方式1相比,光学检测部件14的荧光受光系统250具有分色镜253、分光过滤器254、受光部件255。透过分色镜242的第一荧光中嗜酸性粒细胞的内源荧光和荧光标记抗体试剂113所引起的荧光透过分色镜253,然后与实施方式1同样地被受光部件252接受。透过分色镜242的第一荧光中,荧光标记抗体试剂116所引起的荧光被分色镜253反射,透过分光过滤器254,被受光部件255接受。受光部件255是雪崩光电二极管。

[0107] 如图10所示,在实施方式2涉及的血液分析装置100的处理中,与实施方式1相比,步骤S204后段追加了步骤S211。以下仅就与实施方式1不同的处理进行说明。

[0108] 在步骤S101,如上所述,混合血液样本101、稀释液111、溶血剂112和荧光标记抗体试剂113、116,制备第一测定试样。在步骤S102,通过光学检测部件14进行第一测定。此时,受光部件255向信号处理电路16输出基于所接受的荧光的信号,信号处理电路16向测定控制部件11输出从受光部件255的信号中获得的波形的峰值作为第三荧光信息。

[0109] 在步骤S211,处理部件21对CD8阳性T细胞进行分类和计数。具体而言,处理部件21根据第二散射光信息和第三荧光信息,绘制与图7(b)所示散点图320同样的散点图320,在散点图320设定区域321、322。在此散点图320中,纵轴表示第二散射光信息,横轴表示第三荧光信息。区域321、322分别是被认为含有嗜酸性粒细胞和CD8阳性T细胞的区域。处理部件

21将区域322所含粒子分类为CD8阳性T细胞,并计数区域322所含粒子,以此获取CD8阳性T细胞数。

[0110] 在步骤S205,处理部件21除了上述各血细胞的比率外还算出CD8阳性T细胞的比率。具体而言,用在本步骤S205获取的淋巴细胞数除在步骤S211获得的CD8阳性T细胞数,以此算出CD8阳性T细胞的比率。另外,在步骤S205,处理部件21用在步骤S211获得的CD8阳性T细胞数除在步骤S203获得的CD4阳性T细胞数,以此算出CD4阳性T细胞与CD8阳性T细胞数之比。

[0111] 根据实施方式2,仅对第一测定试样进行一次测定就能算出CD4阳性T细胞与CD8阳性T细胞数之比。如上所述,随着HIV病情的进展,CD4阳性T细胞与CD8阳性T细胞数之比会发生变化。因此,能够顺利获得CD4阳性T细胞与CD8阳性T细胞数之比,并让获得的比值用于辅助对HIV感染的诊断和对病情进展的诊断。

[0112] 在步骤S207,处理部件21除了上述各血细胞数外还算出CD8阳性T细胞数。具体而言,处理部件21通过用本步骤S207获得的淋巴细胞数乘以步骤S205获得的CD8阳性T细胞比率来求出CD8阳性T细胞数。

[0113] 如图11所示,实施方式2的界面400与实施方式1相比,还多了用于CD8阳性T细胞分类和计数的散点图320。实施方式2的列表402与实施方式1相比,还显示CD8阳性T细胞数、CD8阳性T细胞比率、以及CD4阳性T细胞与CD8阳性T细胞数之比。通过图11的界面400,操作者能够直观地把握与CD8阳性T细胞相关的各值。

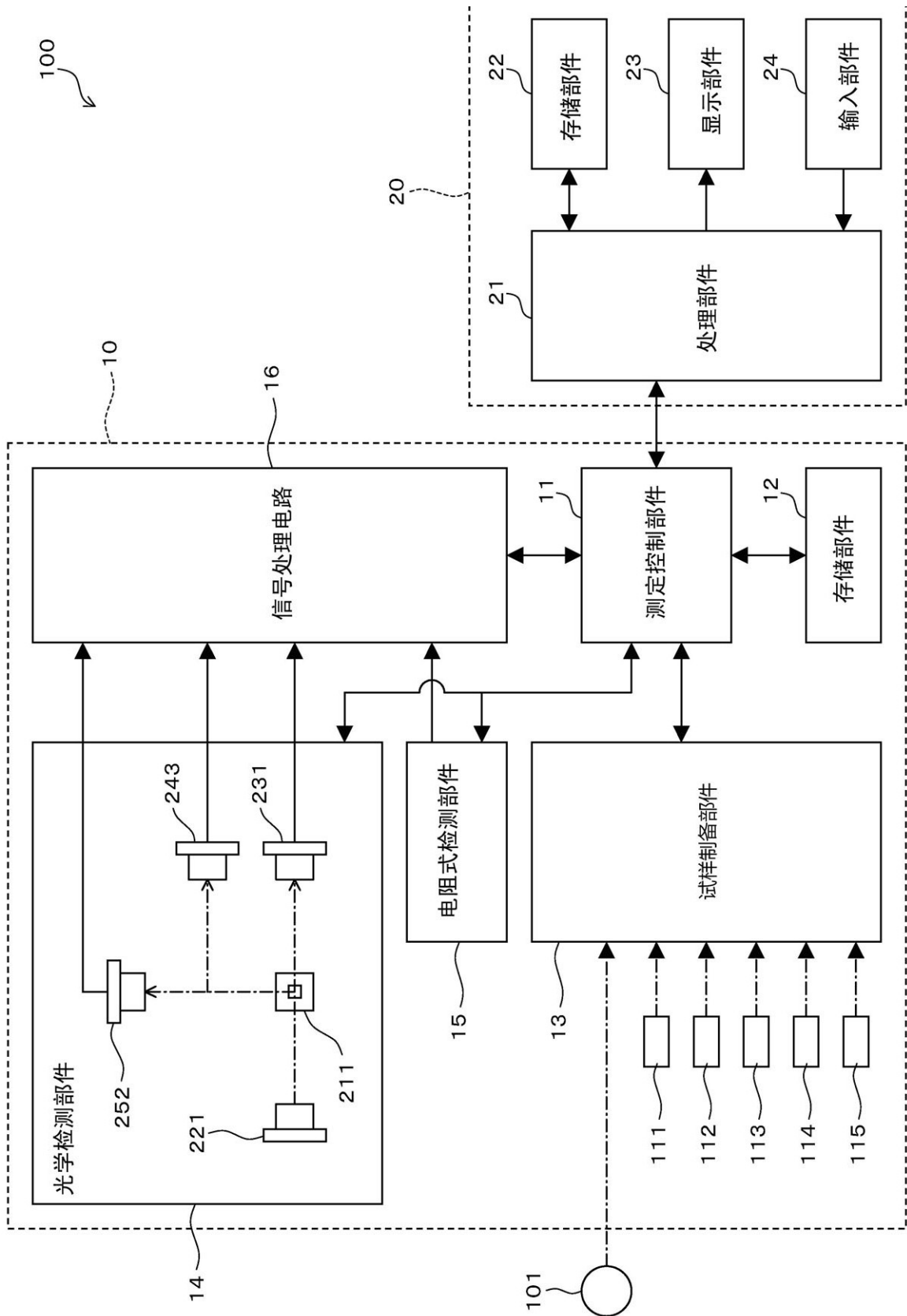


图1

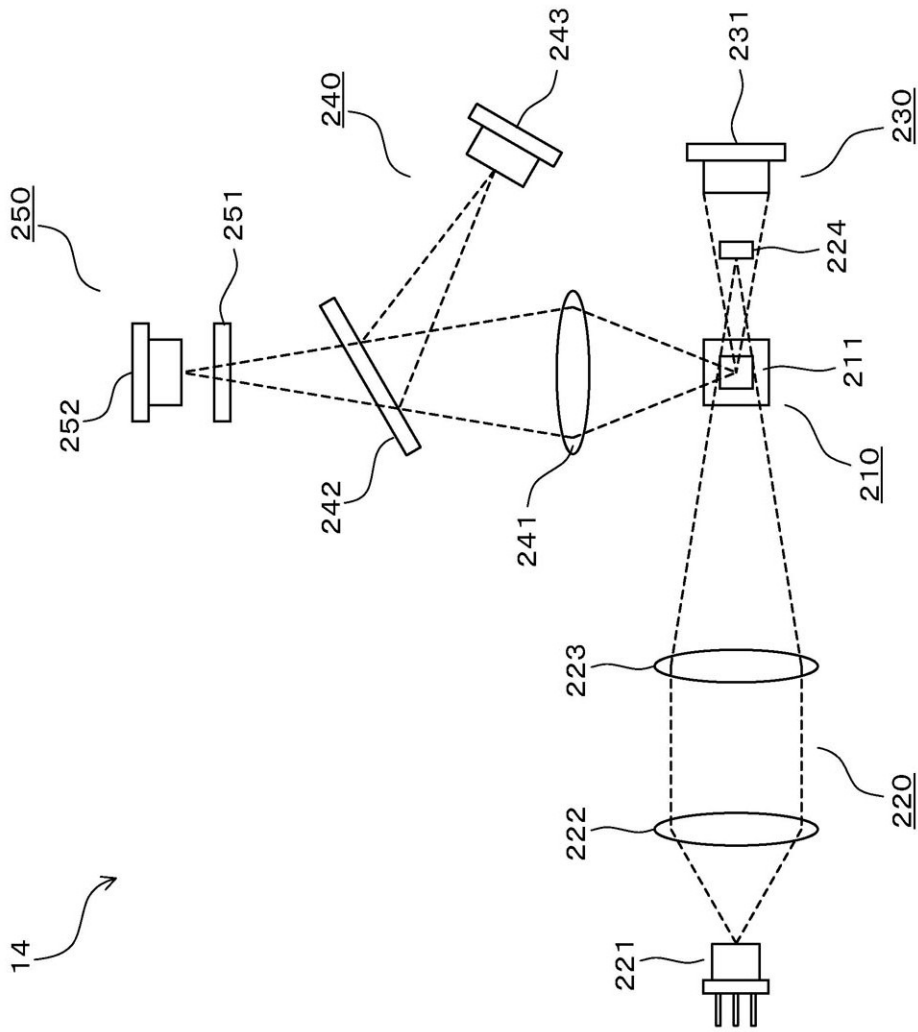


图2

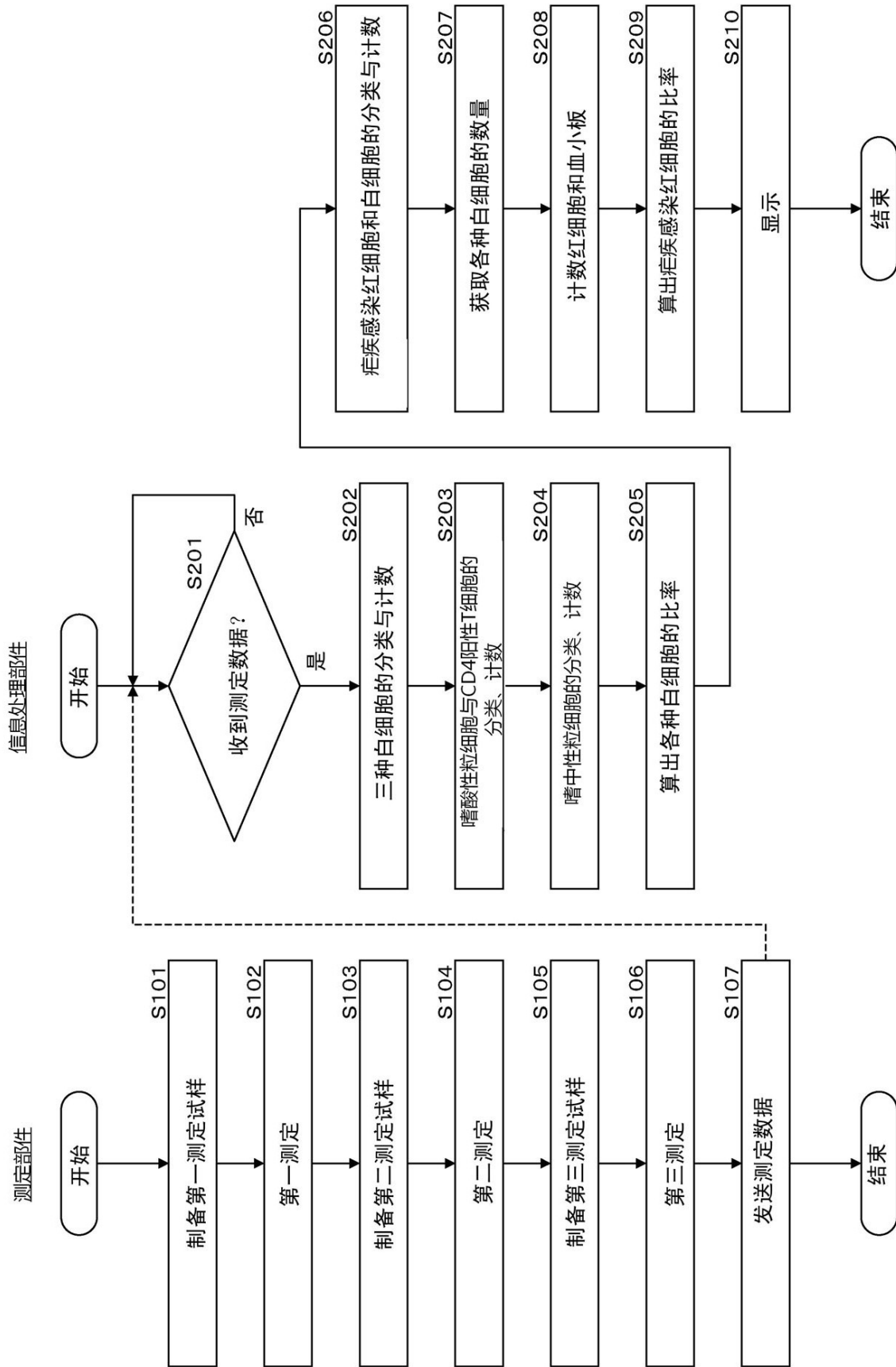


图3

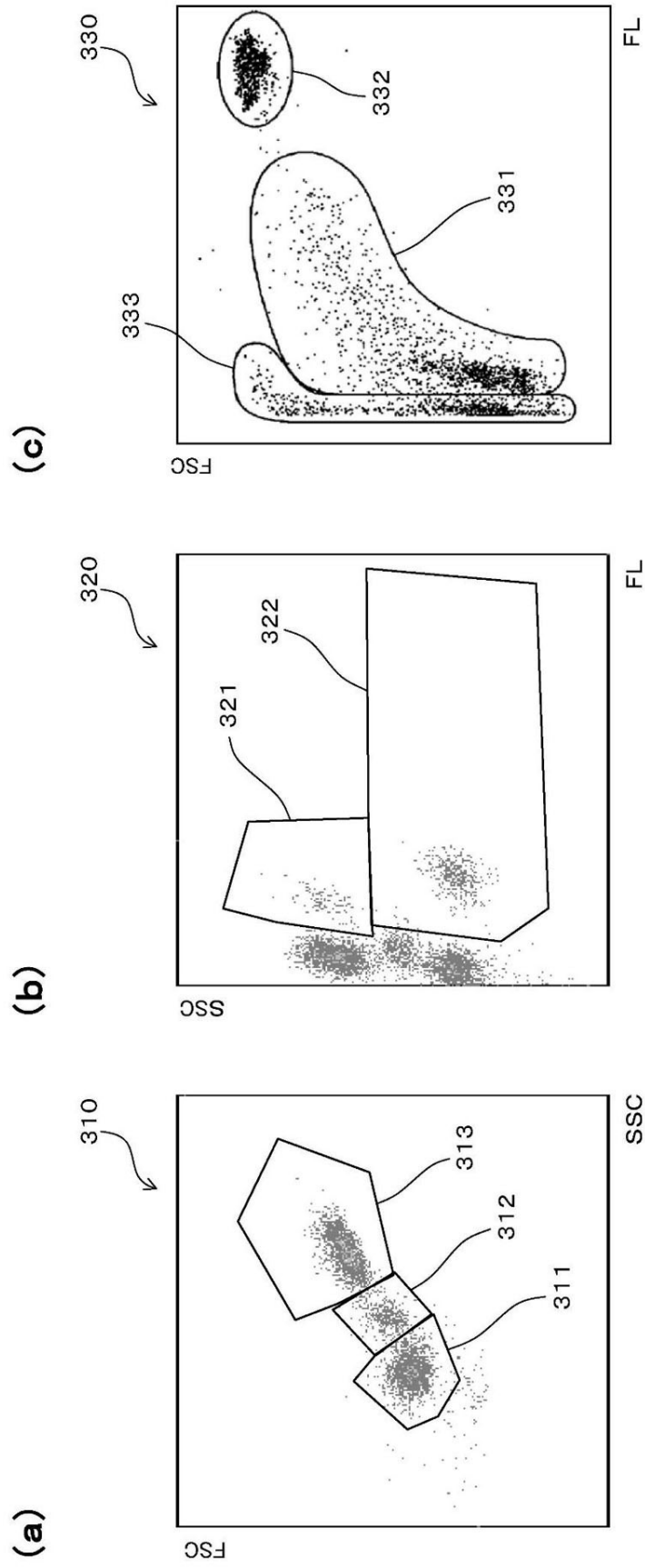


图4

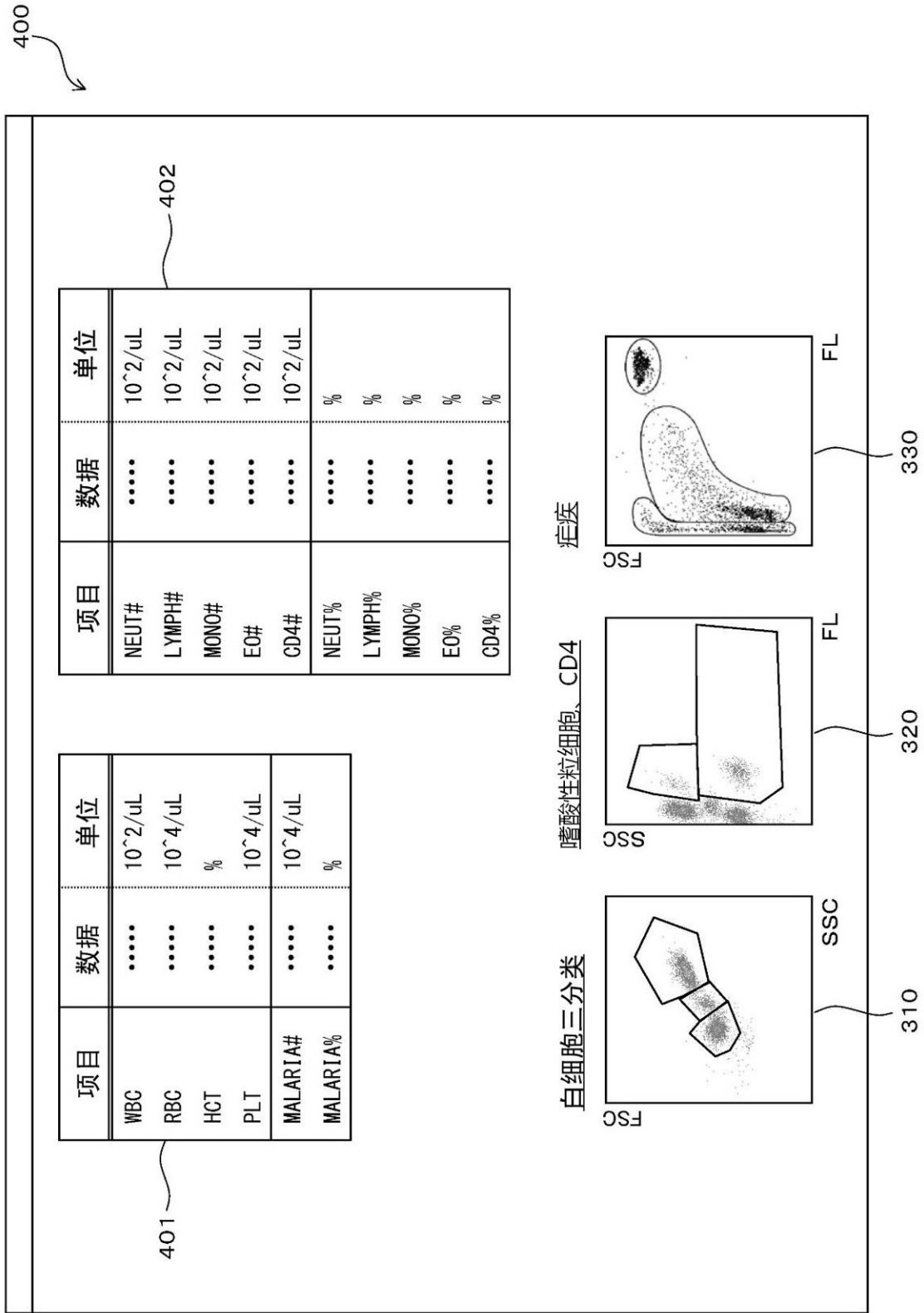


图5

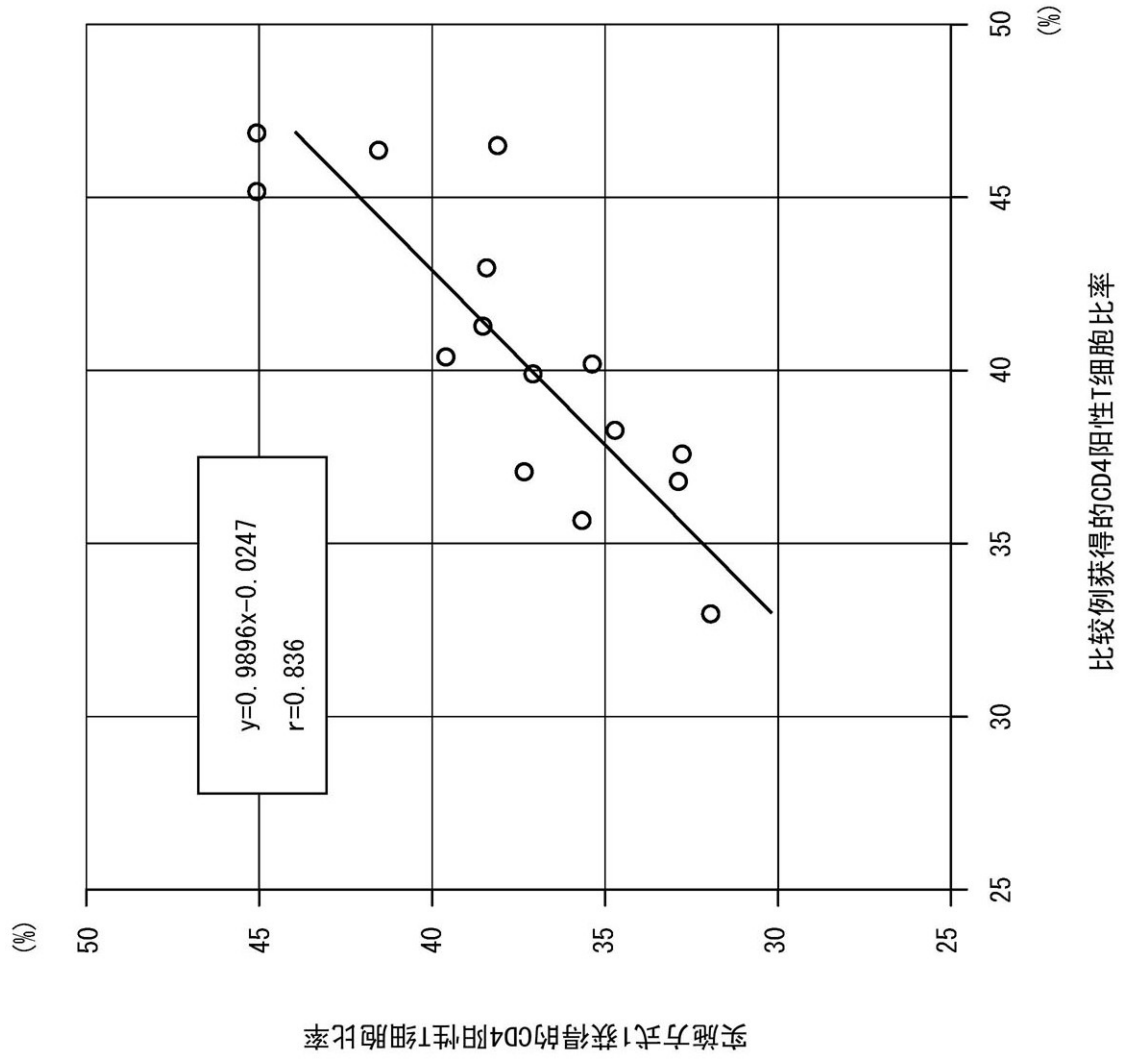


图9

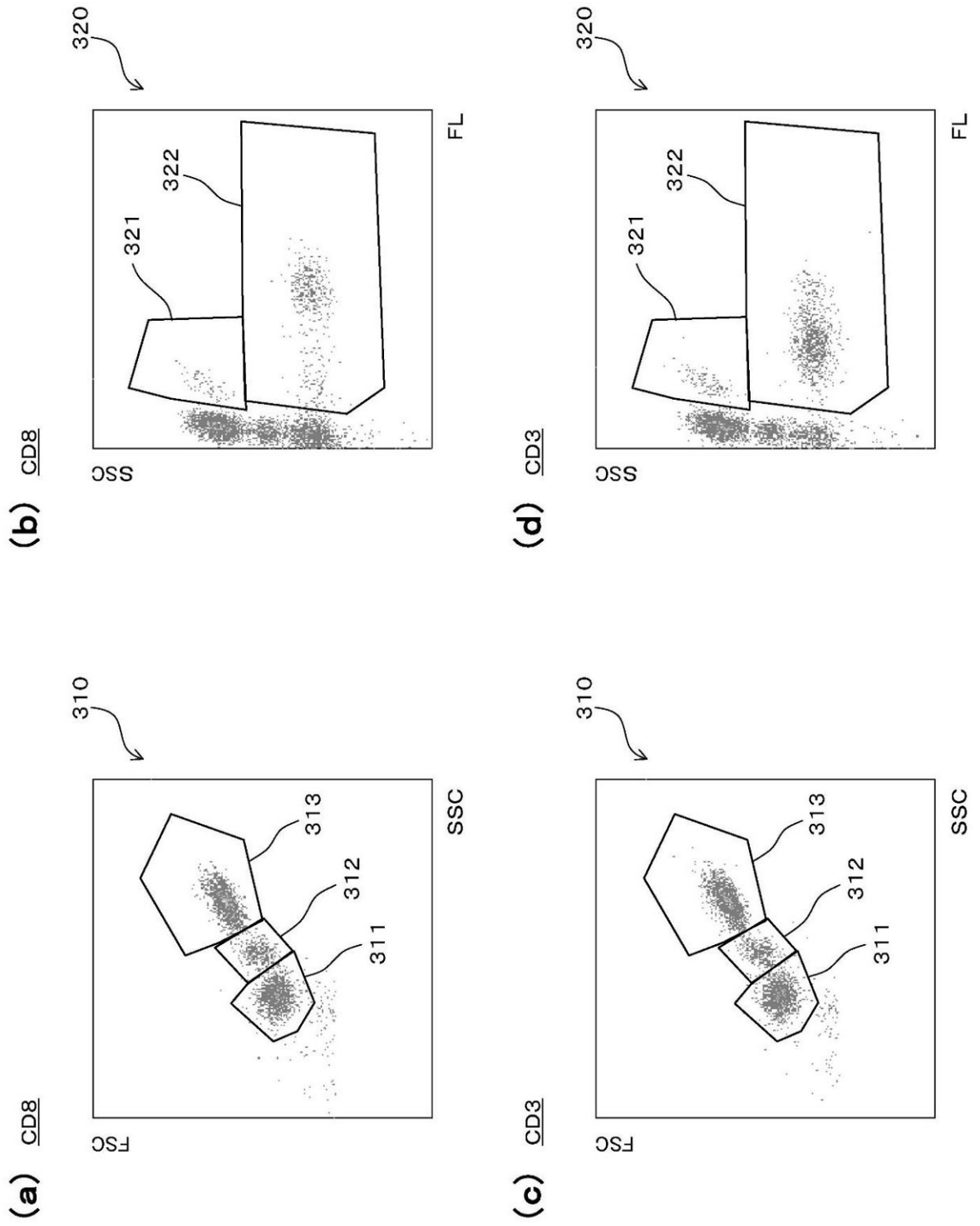


图7

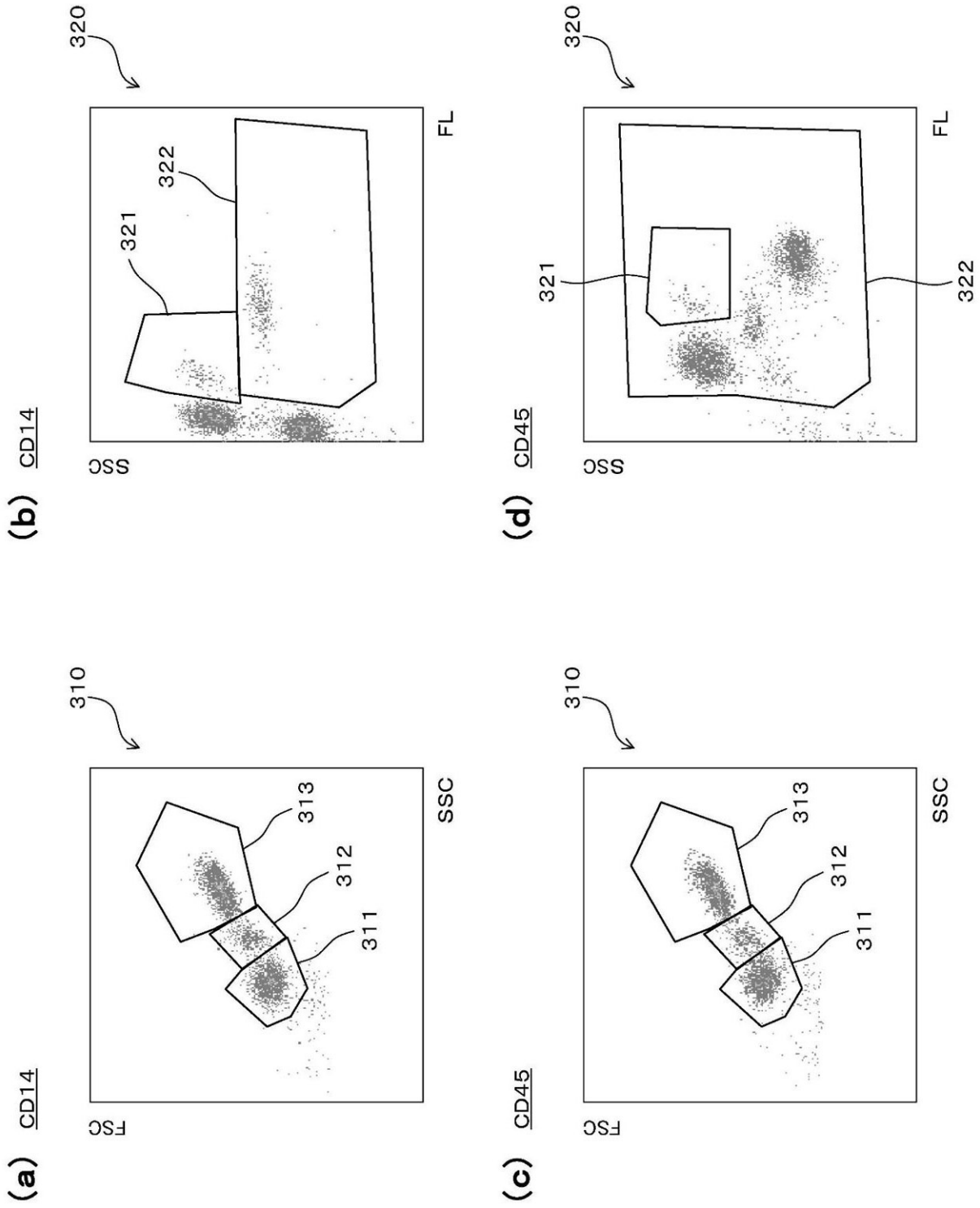


图8

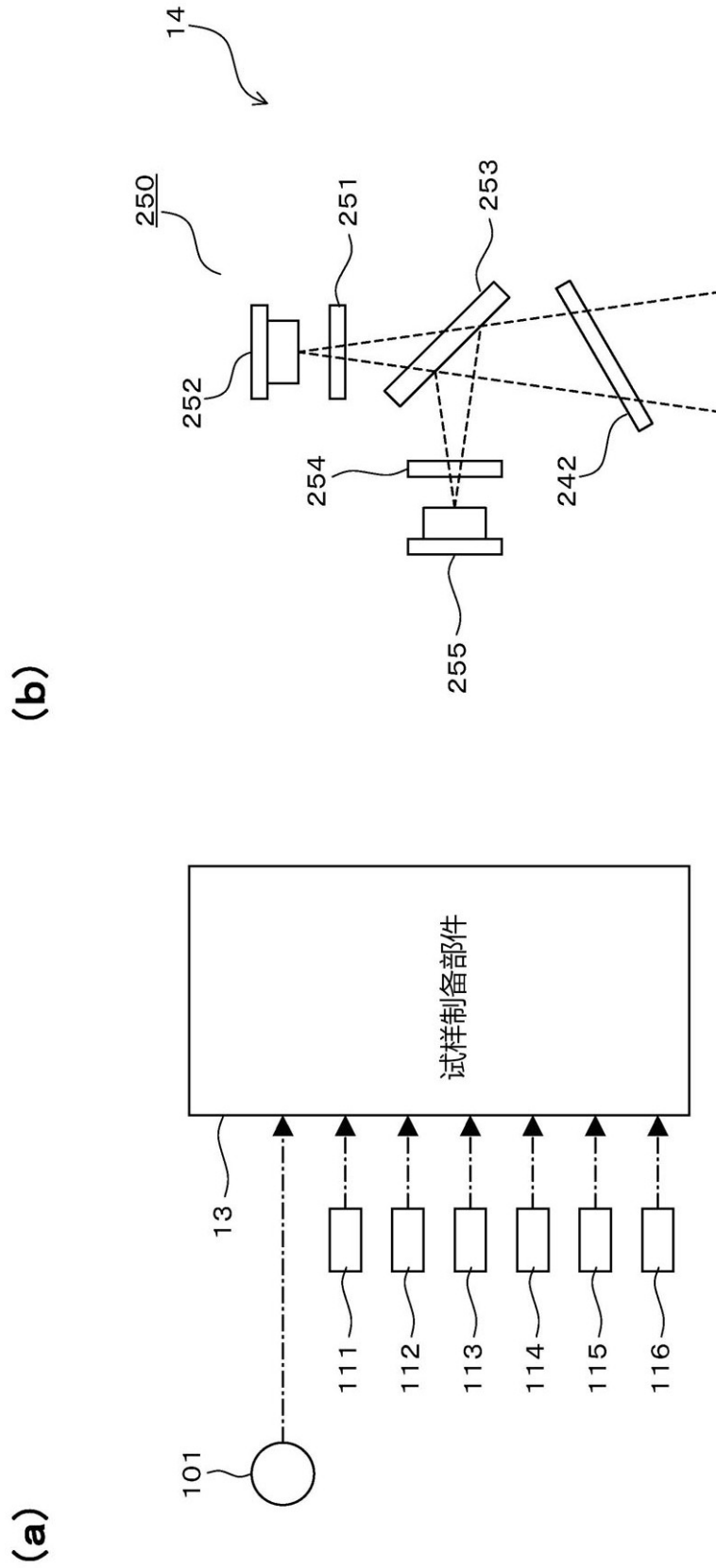


图9

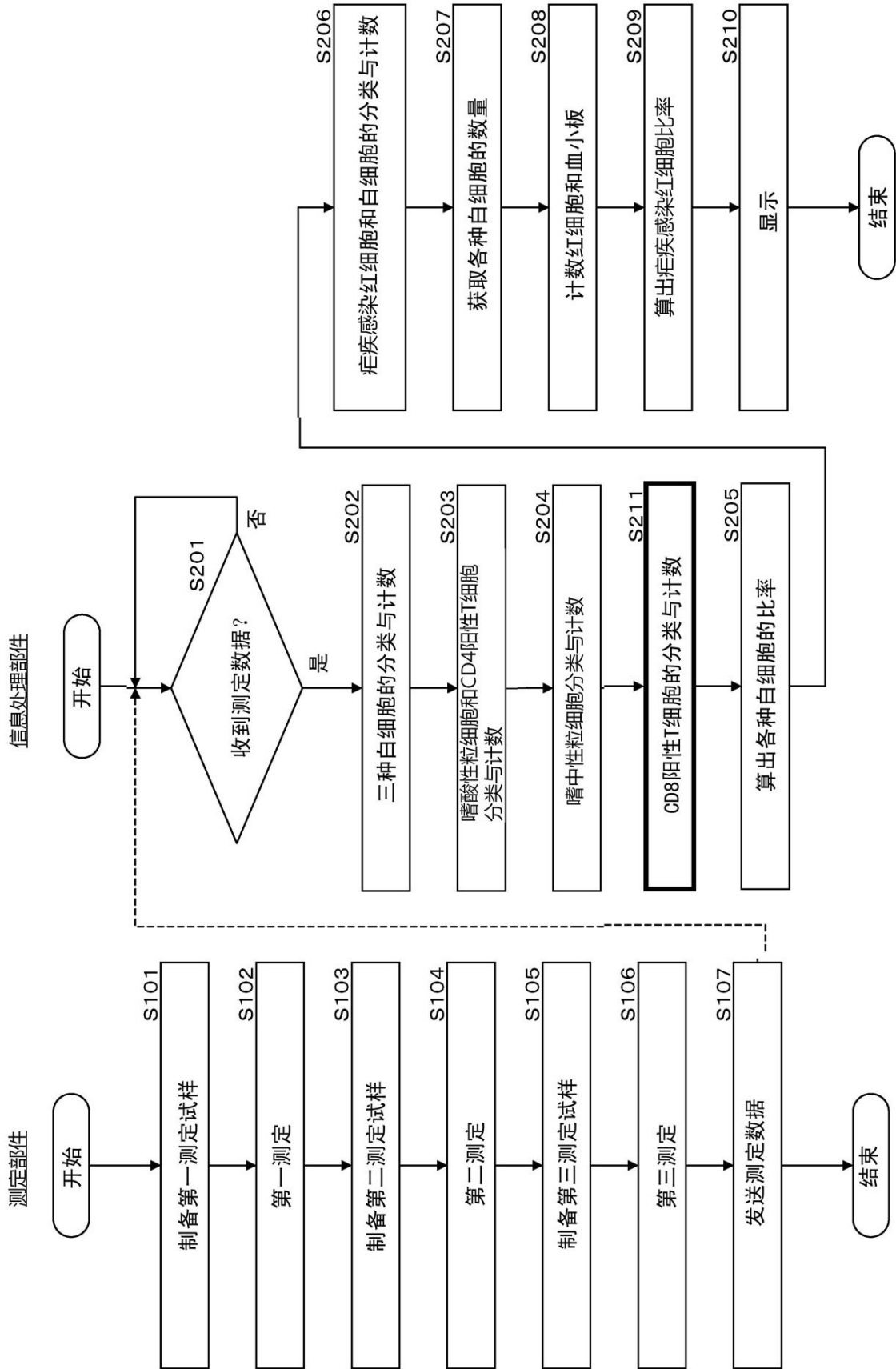


图10

400

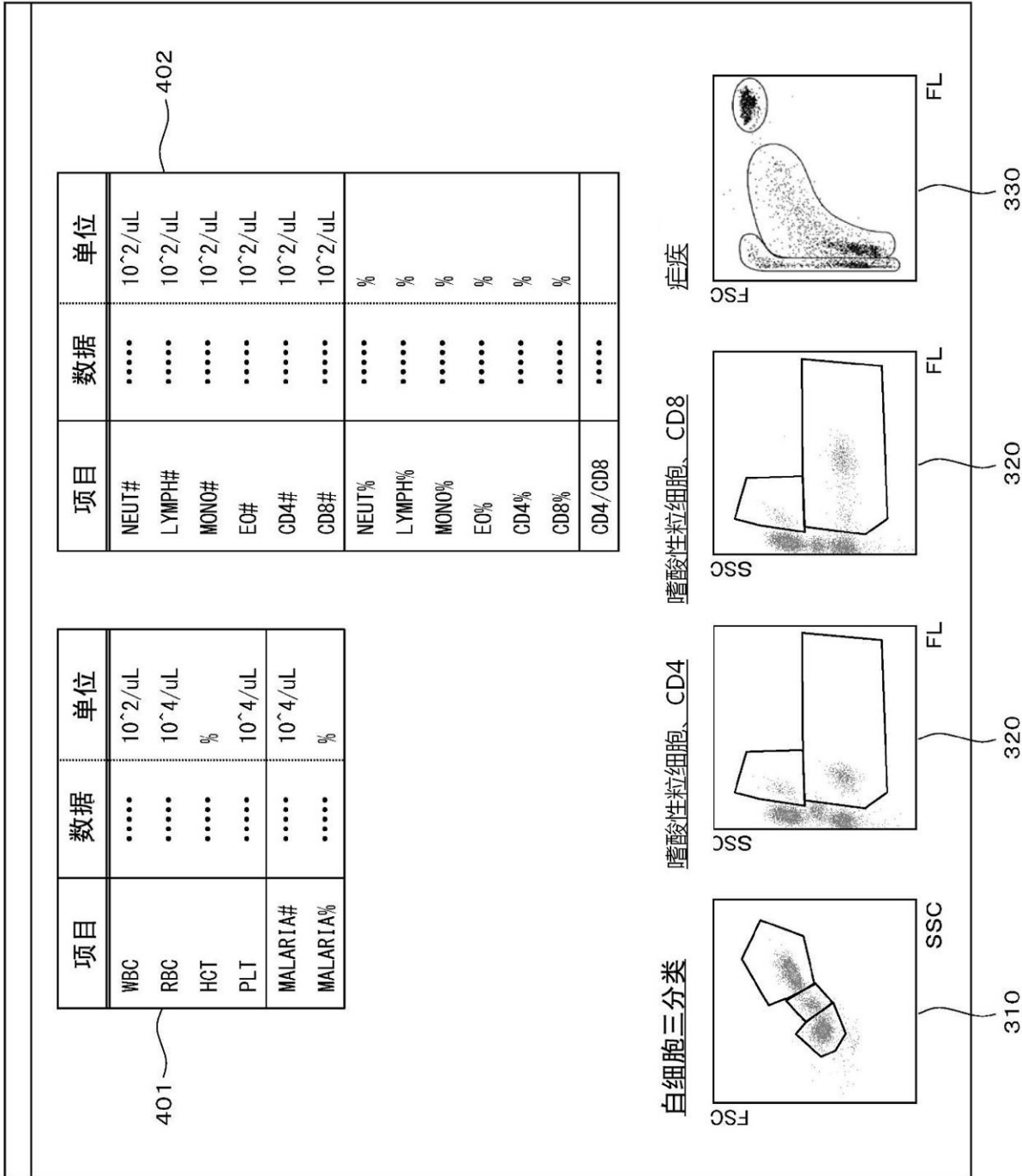


图11

专利名称(译)	血液分析装置及血液分析方法		
公开(公告)号	CN106018771B	公开(公告)日	2019-11-19
申请号	CN201610146193.0	申请日	2016-03-15
[标]申请(专利权)人(译)	希森美康株式会社		
申请(专利权)人(译)	希森美康株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	希森美康株式会社		
[标]发明人	铃木裕义 樋口望		
发明人	铃木裕义 樋口望		
IPC分类号	G01N33/49 G01N33/50 G01N15/14 G01N33/536		
CPC分类号	G01N15/14 G01N33/4915 G01N33/5094 G01N33/536 G01N2015/1037 G01N15/1459 G01N33/56972 G01N2015/008 G01N2015/1006 G01N2015/1402 G01N2015/1477 G01N2015/1486 Y02A50/58 G01N1/34 G01N2333/70503 G01N2333/7051 G01N2333/70514 G01N2333/70589 G01N2800/56		
代理人(译)	杨永波		
审查员(译)	于园园		
优先权	2015066845 2015-03-27 JP		
其他公开文献	CN106018771A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

试样制备部件13在血液样本101中混入溶解红细胞的溶血剂112和标记在CD4阳性T细胞表面表达的CD4抗原的荧光标记抗体试剂113，制备第一测定试样。光源部件221用光照射在流动室211流动的第一测定试样。受光部件231、243、252分别接受在光照下从第一测定试样中的血细胞获得的第一散射光、第二散射光和第一荧光。处理部件21用第一散射光信息和第二散射光信息分类并计数第一测定试样中的淋巴细胞，用第一荧光信息分类并计数第一测定试样中的CD4阳性T细胞。

