

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5805136号
(P5805136)

(45) 発行日 平成27年11月4日(2015.11.4)

(24) 登録日 平成27年9月11日(2015.9.11)

(51) Int.Cl.		F I	
GO 1 N 33/49	(2006.01)	GO 1 N 33/49	G
GO 1 N 33/53	(2006.01)	GO 1 N 33/53	X
GO 1 N 35/10	(2006.01)	GO 1 N 35/06	F

請求項の数 5 (全 21 頁)

(21) 出願番号	特願2013-104028 (P2013-104028)	(73) 特許権者	000155023
(22) 出願日	平成25年5月16日(2013.5.16)		株式会社堀場製作所
(65) 公開番号	特開2014-224754 (P2014-224754A)		京都府京都市南区吉祥院宮の東町2番地
(43) 公開日	平成26年12月4日(2014.12.4)	(74) 代理人	100080791
審査請求日	平成26年6月11日(2014.6.11)		弁理士 高島 一
		(74) 代理人	100125070
			弁理士 土井 京子
		(74) 代理人	100136629
			弁理士 鎌田 光宣
		(74) 代理人	100121212
			弁理士 田村 弥栄子
		(74) 代理人	100122688
			弁理士 山本 健二
		(74) 代理人	100117743
			弁理士 村田 美由紀

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 全血血球免疫測定装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

免疫測定用セルでの免疫測定と、血球計数測定用セルでの血球計数測定が行なわれるように構成された全血血球免疫測定装置であって、

免疫測定用セルを有する免疫測定部と、免疫測定用のラテックス試薬を収容した試薬容器および免疫測定用の他の必要試薬を収容した試薬容器と、血球計数測定用セルを有する血球計数測定部とが、それぞれ所定位置に配置され、単一のサンプリングノズルが前記所定位置に移動して検体および試薬の吸引と吐出を行ない、免疫測定用セルでの免疫測定と、血球計数測定用セルでの血球計数測定が行なわれるように構成されており、

前記ラテックス試薬用の洗浄剤を含有する洗浄液を収容した洗浄液タンクが設けられており、

前記免疫測定用セルにおいて、1つの検体に関する免疫測定が完了し該検体が排出される毎に、該免疫測定用セルには、先に、希釈液が所定量だけ注入され、次に、前記洗浄液が所定量だけ注入され、それによって所定の濃度に希釈された前記洗浄液が該免疫測定用セルの内壁面に接触する状態とされ、その後、該希釈された前記洗浄液が排出される構成となっている、

前記全血血球免疫測定装置。

【請求項 2】

免疫測定用セルの底部には、該セル中の液を排出するための排出口が設けられており、該排出口には電磁切替弁が接続され、該電磁切替弁の作動によって、該排出口を通じて、

10

20

上記洗浄液が免疫測定用セル内に注入され得る構成となっている、請求項 1 記載の全血血球免疫測定装置。

【請求項 3】

上記洗浄液が免疫測定用セル内に注入される際に、全注入量が複数回に分けて注入される構成となっている、請求項 2 記載の全血血球免疫測定装置。

【請求項 4】

上記サンプリングノズルには、サンプリングノズル洗浄器が付帯しており、該サンプリングノズル洗浄器は希釈液を吐出し、該サンプリングノズルの外面を該希釈液で洗浄するよう構成されている、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の全血血球免疫測定装置。

【請求項 5】

希釈液が所定量だけ注入された免疫測定用セルに、上記洗浄液が、3 秒以下の時間で注入され、次いで、所定の濃度に希釈された上記洗浄液が免疫測定用セルの内壁面に接触する状態が、1 ~ 5 秒間維持され、次いで、前記の希釈された洗浄液が、3 秒以下の時間で排出されるように構成されている、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の全血血球免疫測定装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、血液検体に対して、免疫測定を自動的に行う免疫測定部と、血球計数測定を自動的に行う血球計数測定部とを有する全血血球免疫測定装置に関する。

【背景技術】

【0002】

生体内において炎症反応や組織の破壊が生じる場合、いわゆる炎症マーカーの検出を指標に診断が行われている。当該マーカーの一つとして代表的なものが C 反応性タンパク質（以下、CRP という）である。CRP は、関節リウマチ等の自己免疫疾患、悪性腫瘍、主に細菌性の感染症などに罹患すると、肝臓から血中に分泌される血清タンパク質であるため、これらの患者では高値を示すことが知られている。しかしながら、CRP 値は個人差が大きいため、標準値や他者の CRP 値との比較ではなく、患者一人一人の病状経過を観察する際に特に有用な指標である。該 CRP は、ELISA などの方法により免疫学的に測定されるのが一般的である。

【0003】

一方、炎症早期には白血球の左方移動、白血球数が増加するため、CRP のみならず、白血球を同時に測定することも临床上非常に重要である。

本発明者らは上記事項に着目し、白血球測定と CRP 測定とを同時に可能にする全血血球免疫装置を初めて提供した（特許文献 1）。

尚、該特許文献 1 に記載された装置は、白血球に関しては 3 分類を行なうよう構成された装置である。白血球は、好中球(neutrophil)、好酸球(eosinophil)、好塩基球(basophil)、単球(monocyte)、リンパ球(lymphocyte)の 5 種類の細胞に分けることができるが、これらのなかでも、好中球、好酸球、好塩基球は、一括して顆粒球(granulocyte)と称される場合がある。上記特許文献 1 の全血血球免疫測定装置では、白血球に関しては、顆粒球、単球、リンパ球をそれぞれに計数する（即ち、3 分類する）構成となっている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献 1】特許第 3 4 7 7 3 5 2 号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

図 5、図 6 に示すように、上記特許文献 1 の全血血球免疫測定装置には、検体を収容する検体容器 4、CRP セル 19、CRP 測定用試薬を収容した試薬容器（20、21、2

10

20

30

40

50

2)、血球計数測定用セル(白血球用のWBCセル27、赤血球用のRBCセル28)とが、水平方向に一線上に配置されている。そして、単一のサンプリングノズル36が、水平方向の移動(各容器上やセル上への位置合わせの移動)と上下方向の移動(各容器やセルへの出入りの移動)とを所定の順番に従って行なうよう制御される構成となっている。サンプリングノズル36は、「ニードル」とも呼ばれる細長い管である。

CRP測定および血球計数測定のための処理ステップ、サンプリングノズルの順序動作は、図7のフローチャートに示したとおりである。

このような構成によって、〔CRP用試薬と検体の吸引・吐出ステップ、CRPセル内でのCRP測定処理ステップ、WBCセル・RBCセル内での各血球計数測定ステップ、各セルの洗浄処理ステップ、各処理ステップ後の必要に応じたノズル外部の洗浄処理ステップ、最終ステップの後のノズル内外の最終洗浄処理〕といった、1つの検体に対する種々の処理ステップが、シーケンシャルに全自動で行なわれる。全処理ステップを完了するためには1検体あたり約4分を要する。

【0006】

上記のような1つの検体に対する処理ステップに加えて、従来の全血血球免疫測定装置では、所定数の検体を処理する毎に、自動的にCRPセル(CRPを測定し得るように構成された容器)の定期洗浄が行われるようにプログラムされている。

CRPセルの定期洗浄が必要である理由は、次のとおりである。

CRPの測定では、ラテックス免疫比濁RATE法を実施するために、免疫測定用のラテックス試薬(例えば、抗ヒトCRP感作ラテックス免疫試薬)がセル内に分注される。該ラテックス試薬は、図5～図7の例では、試薬容器22内に収容されたR3試薬である。このとき、該ラテックス試薬に含まれるラテックス粒子がCRPセルの内壁面にも付着する。該ラテックス粒子はCRPをも伴って比較的頑固に内壁面に付着し、検体の処理数が増えるにつれて、内壁面上のラテックス粒子の堆積量が増加していく。その結果、CRP測定のための照射光の透過が妨害されるようになり、正しい測定結果が得られなくなる。よって、CRPセルの定期洗浄が必要となる。

【0007】

従来では、光学的測定の正確な結果を得るという観点から、安全を見て、検体数15を以って定期洗浄の間隔としている。

CRPセルの定期洗浄には、上記のようにセルの内壁面に付着したラテックス粒子を除去し得るよう、ラテックス試薬用の洗浄剤を含有する洗浄液が用いられる。該洗浄液は、装置内の洗浄液タンクに収容されており、前記定期洗浄時には、専用の配管を通じてCRPセル内に供給される。

定期洗浄が開始されると、毎回のCRP測定の最後にCRPセル内をすすぐために該セル内に供給される希釈液が排出された後、次回のCRP測定が停止され、前記タンク内の洗浄液がそのまま(即ち、原液のまま)該セル内を満たすまで供給され、該セルの内壁面は洗浄液に浸漬される。この浸漬状態が1～2分間保たれた後、洗浄液は排出され、該セル内に希釈液の注入と排出とが6～7回繰り返されてすすぎ洗いが行われ、該洗浄液は残留がないように希釈液によって十分に除去される。尚、このとき、新しい希釈液が単純に注入されて排出されるという単純なすすぎ動作だけでなく、セル内に注入した希釈液を、セル外に吸引し、それを再びセル内に注入し、さらに再びセル外に吸引し、というように希釈液を往復させるという攪拌動作が加えられる場合もある。

以上のような一連の動作によって、一回の定期洗浄は6分程度の時間を要するものとなっている。

【0008】

CRPセルの定期洗浄は、一般的な検査では何ら問題が無く好ましいものであるものの、多量の検体を測定する必要のある機関にとっては、1日の処理量を減少させる要因の1つとなっていた。

しかし、従来の全血血球免疫測定装置の構成では、CRPセルの定期洗浄の間隔(洗浄間の検体の処理数)や、1回の定期洗浄で行われる洗浄ステップはいずれも適切かつ必須

10

20

30

40

50

であって、該定期洗浄の間隔を大きくしたり、1回の定期洗浄の時間を短縮できるような余地は無かった。

【0009】

本発明の課題は、CRPセルの定期洗浄の間隔をより大きくし、該定期洗浄を無くすことも可能な、全血血球免疫測定装置を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0010】

本発明は、次の特徴を有するものである。

(1) 免疫測定用セルでの免疫測定と、血球計数測定用セルでの血球計数測定が行なわれるように構成された全血血球免疫測定装置であって、

免疫測定用セルを有する免疫測定部と、免疫測定用のラテックス試薬を収容した試薬容器および免疫測定用の他の必要試薬を収容した試薬容器と、血球計数測定用セルを有する血球計数測定部とが、それぞれ所定位置に配置され、単一のサンプリングノズルが前記所定位置に移動して検体および試薬の吸引と吐出を行ない、免疫測定用セルでの免疫測定と、血球計数測定用セルでの血球計数測定が行なわれるように構成されており、

前記ラテックス試薬用の洗浄剤を含有する洗浄液を収容した洗浄液タンクが設けられており、

前記免疫測定用セルにおいて、1つの検体に関する免疫測定が完了し該検体が排出される毎に、該免疫測定用セルには、先に、希釈液が所定量だけ注入され、次に、前記洗浄液が所定量だけ注入され、それによって所定の濃度に希釈された前記洗浄液が該免疫測定用セルの内壁面に接触する状態とされ、その後、該希釈された前記洗浄液が排出される構成となっている、

前記全血血球免疫測定装置。

(2) 免疫測定用セルの底部には、該セル中の液を排出するための排出口が設けられており、該排出口には電磁切替弁が接続され、該電磁切替弁の作動によって、該排出口を通じて、上記洗浄液が免疫測定用セル内に注入され得る構成となっている、上記(1)記載の全血血球免疫測定装置。

(3) 上記洗浄液が免疫測定用セル内に注入される際に、全注入量が複数回に分けて注入される構成となっている、上記(2)記載の全血血球免疫測定装置。

(4) 上記サンプリングノズルには、サンプリングノズル洗浄器が付帯しており、該サンプリングノズル洗浄器は希釈液を吐出し、該サンプリングノズルの外面を該希釈液で洗浄するよう構成されている、上記(1)～(3)のいずれかに記載の全血血球免疫測定装置。

(5) 希釈液が所定量だけ注入された免疫測定用セルに、上記洗浄液が、3秒以下の時間で注入され、次いで、所定の濃度に希釈された上記洗浄液が免疫測定用セルの内壁面に接触する状態が、1～5秒間維持され、次いで、前記の希釈された洗浄液が、3秒以下の時間で排出されるように構成されている、上記(1)～(4)のいずれかに記載の全血血球免疫測定装置。

【発明の効果】

【0011】

図7のフローチャートのステップa8、a9のように、従来では、各検体のCRP測定毎の処理ステップの最後に、希釈液によるCRPセルのすすぎ洗いが行われている。

従来のCRP測定毎のすすぎ洗いの手順は、装置によっても異なるが、例えば、サンプリングノズルに付帯したノズル洗浄器(後述)から吐出される希釈液でCRPセルを満たして排出することを繰り返すという単純なすすぎ洗いの手順や、CRPセルに満たされた希釈液をサンプリングノズルでセル外に吸引し、それを再びセル内に注入し、さらに再びセル外に吸引し、というように希釈液を往復させるという攪拌動作が加えられた手順などが挙げられる。

【0012】

しかしながら、このような希釈液によるCRPセルのすすぎ洗いでは、上記課題の説明

10

20

30

40

50

で述べたとおり、検体の処理回数が増えるにつれて、内壁面上へのラテックス粒子の堆積量が増加していく。

そこで、本発明では、毎回の免疫測定（CRP測定）の後で、即ち、各検体の免疫測定（CRP測定）が完了し検体が排出された後に、ラテックス試薬用の洗浄剤を含んだ洗浄液（以下、単に「洗浄液」ともいう）を、免疫測定用セル（CRPセル）の内壁面に、所定の濃度に希釈して短時間だけ接触させることを発想するに至った。

【0013】

ところで、本発明者の研究によれば、洗浄液によってCRPセルの内壁面を過度に洗浄してラテックス粒子の残留を無くしてしまうと、その直後に行われる免疫測定でのCRP-ラテックス凝集反応において、凝集反応に寄与すべきラテックス粒子がCRPセルの内壁面にも付着し、その結果、凝集反応が阻害され、CRP測定値が低い値（偽低値）として表れる場合があることがわかった。

例えば、次の（a）、（b）のような洗浄を行った場合、CRPセルの内壁面に付着したラテックス粒子が完全に除去されるかまたは大きく減少するので、その直後のCRP測定値が偽低値として表れる場合がある。

（a）従来より行われていたCRPセルの内壁面の洗浄ステップにおいて、希釈液の代わりに定期洗浄で用いられている洗浄液（即ち、上記したラテックス試薬用洗浄液の原液）を用いて、同様の洗浄動作を行う洗浄。

（b）希釈された洗浄液を用い、バブリングなどの攪拌を併用した長時間の洗浄。

【0014】

上記した偽低値を生じさせず、1検体当たりの処理時間を過度に延長させることなく、かつ、CRPセルの定期洗浄の間隔をより大きくするためには、CRPセルの内壁面にラテックス粒子が適度に付着している状態を維持し、それによって、該内壁面の界面状態を安定させることが好ましいことが分かった。

本発明では、このような新たな知見に基づき、毎回のCRP測定においてCRPセルの内壁面に付着するラテックス粒子を適度に除去すべく、上記洗浄液を原液のままを用いるのではなく、先ず、CRPセル内に希釈液を所定量だけ注入し、そこへ前記洗浄液（原液）を所定量だけ注入し、それによって所定の濃度に希釈された洗浄液（以下、「希釈洗浄液」とも呼ぶ）をCRPセル内で作り出し、その希釈洗浄液がCRPセルの内壁面に接触する状態とし、その接触状態を所定の短時間だけ維持した後、該希釈された洗浄液を排出している。CRPセル内への希釈液の注入には、サンプリングノズル洗浄器などの注入器を用いてよい。

希釈洗浄液をCRPセル内で作り出すに際して、該CRPセルに先に希釈液を所定量だけ注入しておくことによって、CRPセルの内壁面に洗浄液の原液が接触することがない。よって、毎回のCRP測定毎にラテックス粒子の適度な除去が行われ、CRPセルの内壁面にラテックス粒子が適度に残留する。

適度に希釈された洗浄液がCRP測定毎にCRPセルの内壁面に接触することによって、定期洗浄の間隔は飛躍的に長くなり、さらには、定期洗浄を無くすことも可能になり、しかも、CRP測定値が偽低値を示すこともない。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】図1は、本発明による全血血球免疫測定装置の主要部分の構成例を模式的に示す図である。

【図2】図2は、本発明による全血血球免疫測定装置の好ましい態様におけるサンプリングノズルの動きを示したフローチャートである。

【図3】図3は、本発明による全血血球免疫測定装置の外観の一例を示す図である。

【図4】図4は、CRPセルに洗浄液を注入した場合（本発明）と、希釈液によるすすぎ洗いだけの場合（従来例）との差異を示したグラフ図である。グラフの縦軸は、最初の検体の測定におけるブランク吸光度を1としたときの、それに対するその後の検体の測定におけるブランク吸光度の比率を示し、グラフの横軸は、検体数（測定の試行回数）を示し

10

20

30

40

50

ている。

【図5】図5は、特許文献1に記載された装置の構成を示す図である。図5(a)は該文献の図2を示し、図5(b)は該文献の図3を示す。

【図6】図6は、図5(a)に示された特許文献1の装置の主要部分の構成を抜き出して模式的に示した図である。

【図7】図7は、図5に示した装置におけるサンプリングノズルの動きを示したフローチャートである。

【発明を実施するための形態】

【0016】

以下、実施例を挙げて、本発明の全血血球免疫測定装置の構成をより詳細に説明する。

図1は、本発明の全血血球免疫測定装置の好ましい態様における、特徴的な構成部分を示した部分拡大図である。同図に示すように、当該全血血球免疫測定装置では、免疫測定用セル19を有する免疫測定部と、免疫測定用試薬(R1、R2、R3)をそれぞれ収容した試薬容器(20、21、22)と、血球計数やヘモグロビン濃度測定などを行なうための血球計数測定用セル(BASOセル27a、LMNEセル27b、RBCセル27c、WBCセル27d)を有する血球計数測定部とが、所定位置に配置されている。これらの血球計数測定用セルは、白血球5分類を含んだ詳細な分析を行なうための好ましい一例である。これらの測定用セルについては後述する。

図1の例では、検体を収容した検体容器4が当該装置の所定位置にセットされており、該検体容器4、試薬容器(20、21、22)、免疫測定用セル19、血球計数測定用セル(BASOセル27a、LMNEセル27b、RBCセル27c、WBCセル27d)の各所定位置は、水平方向に伸びる直線に沿って並んでいる。そして、プローブユニット13によって水平方向・垂直方向に移動し得る単一のサンプリングノズル36が、前記直線に沿って移動しかつ上下に移動して、各容器やセル内に対する進入と脱出を行い、検体および試薬の吸引と吐出を行なうように、コンピュータ制御される構成となっている。該サンプリングノズル36には、サンプリングノズル洗浄器39が付帯しており、該サンプリングノズル洗浄器39は希釈液を吐出し、該サンプリングノズルの外面を該希釈液で洗浄するよう構成されている。そして、免疫測定用セル19と制御部(図示せず)とによって免疫測定が自動的に行われ、血球計数測定用セル(27a~27d)と該制御部とによって、血球計数測定が自動的に行なわれるよう構成されている。

尚、図1は、略図のため、各セルやチャンパーなどの容器の底部を角部を有するように描いているが、実際には、液体のスムーズな流出、流入を考慮して適宜丸みを帯びたものであることが好ましい。

本発明の重要な特徴は、上記発明の効果の説明で述べたとおり、免疫測定用セル19において1つの検体に関する免疫測定が完了し該検体が排出される毎に(即ち、毎回の免疫測定が終了する毎に)、該免疫測定用セル19内において所定の濃度の希釈洗浄液を作り出し、その希釈洗浄液を該免疫測定用セル19の内壁面に接触させる点にある。

本発明の装置には、前記ラテックス試薬用の洗浄剤を含有する洗浄液を原液の状態に収容した洗浄液タンク19hが設けられており、また、希釈液を収容したタンクも設けられている。洗浄液の詳細については後述する。

免疫測定用セル19には、まず、希釈液が所定量だけ注入され、次に、該洗浄液タンクから洗浄液(原液)が所定量だけ注入されて、該免疫測定用セル内で希釈洗浄液が作りだされる。希釈液は、所定の注入器から専用の配管を通じて注入されてもよいが、サンプリングノズル洗浄器39からの吐出を利用した注入(免疫測定用セルの上部開口からの注入)が好ましい態様である。該希釈洗浄液は、所定時間だけ該免疫測定用セル19内に保持された後(即ち、希釈洗浄液を、該免疫測定用セルの内壁面に所定時間だけ接触させた後)排出される。この順序動作は、制御部によって制御される。

上記の手順によって免疫測定用セル内で希釈洗浄液を作り出し、それを免疫測定用セルの内壁面に免疫測定の終了ごとに接触させることによって、該内壁面は、ラテックス粒子が適度に付着した状態に保たれ、免疫測定結果が偽低値となることを防止しながらも、定

10

20

30

40

50

期洗浄の間隔をより大きくすることが可能になり、最も適切な条件下では、定期洗浄が不要になる。さらに、希釈液を先に免疫測定用セルに注入するため、洗浄液（原液）が直接的にセルの内壁面に接触することがないので、該セルの内壁面の過度な洗浄を防止することができる。

【0017】

当該全血血球免疫測定装置の全体的な外観は、特に限定はされないが、例えば、図3に示すものが挙げられる。図3の例では、検体を収容した検体容器（採血管とも呼ばれる）をセットするための検体容器セット部（採血管ホルダー）Cが前面に開閉可能に設けられている。また、側面には、免疫測定用の試薬容器の収容部が露出するよう扉Dが設けられており、試薬の補充や、免疫測定部のメンテナンスが可能になっている。

10

【0018】

免疫測定部と血球計数測定部とを所定位置に配置し、サンプリングノズルを制御して移動させ、検体や試薬の吸引と吐出を行なわせ、さらに、各セル内で免疫測定と血球計数測定を自動的に行うための基本的な構成、機構、制御、計測の手法自体は、上記特許文献1など、従来公知の全血血球免疫測定装置、血球測定装置、免疫測定装置の技術を参照してよい。各部の機構を制御し、得られるデータを処理する制御部としては、コンピュータが適切である。

【0019】

当該装置で行うべきラテックス免疫比濁RATE法に従った免疫測定は、血しょう中成分の分析などの免疫学的な測定であればよく、特に限定はされないが、なかでもCRP値の測定は、代表的な炎症マーカーとして臨床検査（細菌感染症等）に繁用されており、全血血球免疫測定装置にとっては重要な測定項目である。

20

以下の説明では、免疫測定の実例としてCRP測定を挙げて本発明を説明する。

【0020】

〔免疫測定部（CRP測定部）〕

図1に示す例では、免疫測定用セル19は、CRPを測定し得るように構成されたセルであり、CRP測定用の光照射部19aおよび光検出部19bをセルの下部壁面に備えるとともに、内部に収容される液を適宜攪拌できるように構成されている。以下、免疫測定用セルをCRPセルとも呼ぶ。

CRPセルにおいて、ラテックス免疫比濁RATE法に従ってCRPを光学的に測定する技術や、光照射部、光検出部の素子の配置構造、セルの材料、CRPの測定に適したセルの形状・寸法などの構成自体は、従来技術を参照してよい。図1では、光照射部19aと光検出部19bとが対向して設けられた構成を示唆している。

30

【0021】

図1の例では、CRPセル19の底部には、該セル中の液を排出するための排出口が設けられている。該排出口には破線で示す配管によって経路切替え用の電磁切替弁19cが接続され、該電磁切替弁19cの切替え動作によって、廃液が、該電磁切替弁19c、電磁弁装置12を経て、ポンプPによって、廃液容器18へと送られる構成となっている。

また、該電磁切替弁19cには、さらに第2の電磁切替弁19dが接続され、該電磁切替弁19dには、CRPセル内を攪拌するための定注器（シリンジ）19eが接続されている。電磁切替弁19c、19dの切替え動作による管路の形成と、定注器19eの吸引と吐出の動作によって、CRPセル内の液体が攪拌される。

40

さらに、第2の電磁切替弁19dには、第3の電磁切替弁19fが接続され、該電磁切替弁19fには、CRPセル内に洗浄液を注入するための定注器19gと洗浄液タンク19hとが接続されている。まず、第3の電磁切替弁19fの切替え動作による吸引管路の形成と定注器19gの吸引動作とによって、洗浄液タンク19h内の洗浄液が定注器19g内に吸引され、次に、電磁切替弁19c、19d、19fの切替え動作による注入管路の形成と定注器19gの吐出動作とによって、該定注器内の洗浄液がCRPセル内に注入される。

【0022】

50

CRP測定のための試薬容器20には、溶血試薬（以下、R1試薬という）が収容されている。R1試薬は、公知のものを用いてよく、例えば、界面活性剤（合成物またはサボニンのような天然物のいずれの場合も含む）を主成分とする溶液などが挙げられる。

試薬容器21には、緩衝液（以下、R2試薬という）が収容されている。R2試薬は、公知のものを用いてよく、例えば、Tris-HCl（トリス塩酸）緩衝液、グリシン緩衝液などが挙げられる。

試薬容器22には、ラテックス試薬（以下、R3試薬ともいう）が収容されている。R3試薬は、ラテックス粒子表面に抗CRP抗体を固定化することによって作成されるものである。R3試薬は、ラテックス免疫比濁RATE法に従って免疫測定（本例ではCRP測定）が可能な試薬であればよく、例えば、抗ヒトCRPウサギポリクローナル抗体感作ラテックス懸濁液、抗ヒトCRPマウスモノクローナル抗体感作ラテックス懸濁液、抗ヒトCRPヤギポリクローナル抗体感作ラテックス懸濁液などが挙げられる。

ラテックス粒子の材料としては、例えば、ポリスチレンラテックスなどが挙げられる。ラテックス粒子の一般的な粒子径は、0.01 μ m～2 μ m程度である。

【0023】

これら試薬容器は、ソレノイドやステップモータなどのアクチュエータによって上下方向に揺動する蓋によって一括して開閉されるように構成されることが好ましい態様である。

また、ペルチェ素子からなる電子冷却器を備えたクーラーボックスに試薬容器21、22を収容することが好ましい態様である。

【0024】

〔血球計数測定部〕

血球計数測定部で行うべき血球の測定項目は、特に限定はされないが、例えば、特許文献1のように、赤血球の計数（体積と度数分布）、ヘモグロビン量の測定、白血球の3分類（単球、リンパ球、顆粒球の分画計数）であってもよいし、さらに、本発明の図1に示す実施例のように、白血球の5分類（リンパ球、単球、好中球、好酸球、好塩基球の分類と計数）を行ってもよい。これらの測定項目は、装置の目的、ユーザーの要求、製品の価格などに応じて適宜決定すればよい。

【0025】

血球計数測定を行うための装置は、その測定項目に応じて、電気抵抗法（インピーダンス法とも呼ばれる）、光学的測定法を実施し得るように、各血球計数測定用セル内に必要な装置構成を設け、制御部によって作動する構成とすればよい。

例えば、特許文献1の装置のように、電気抵抗法によって、WBC（白血球数）、RBC（赤血球数）、PLT（血小板数）、MCV（赤血球容積）、Hct（ヘマトクリット値）を行い、比色法（ノンシアン法）における吸光光度法によりHgb（ヘモグロビン濃度）などをそれぞれ測定するように構成してもよい。

特許文献1の装置では、WBC/Hgb血球計数測定セルには、WBCを電気抵抗法に基いて測定するための測定電極対が設けられ、Hgbを測定するための光照射部と受光部とが設けられている。また、RBC/PLT血球計数測定セルには、RBCおよびPLTを電気抵抗法に基いて測定するための測定電極対が設けられている。

【0026】

本願の図1の例では、血球計数測定部として設けられた血球計数測定用セルは、BASOセル27a、LMNEセル27b、RBCセル27c、WBCセル27dである。

BASOセル27aは、好塩基球を計数するためのセルであって、試薬の作用により、好塩基球以外の血球を溶血または収縮させることによって、好塩基球だけを計数可能とし、電気抵抗法に基いて、該好塩基球を計数し得るように構成された槽である。

LMNEセル27bは、後述の集光型フローインピーダンス法によって、リンパ球（L）、単球（M）、好中球（N）、好酸球（E）を計数するよう構成されたセルである。

RBCセル27cは、赤血球および血小板を計数するためのセルであって、特許文献1の装置におけるRBC/PLT血球計数測定セルと同様、セルの下部には電気抵抗法を実

10

20

30

40

50

施し得るようアパーチャと電極とを持った装置が設けられている。

WBCセル27dは、特許文献1の装置におけるWBC/Hgb血球計数測定セルと同様のものであって、白血球の計数をより正確に行うために設けられたセルである。WBCセルでは、専用の試薬によって、リンパ球、単球、好中球、好酸球、好塩基球を含めた白血球全体の計数が可能となっており、電気抵抗法を実施し得るようアパーチャと電極とを持った測定装置が設けられている。このセルでは、白血球の計数に加えて、ヘモグロビン濃度の測定をも行なわれる。

【0027】

電気抵抗法は、検体血液を希釈液中に分散させた試料液を流路に導入し、その流路の途中に、オリフィスのごとく流路の断面積が小さくなったアパーチャ（小孔）を設け、該アパーチャを間に置いてその両側に一对の電極を設けることによって、該アパーチャを通過する粒子の容積を、電極間の電氣的な特性の変化に基いて測定する手法である。

一方、光学的な手法で血球を識別する好ましい手法として、フローサイトメトリーが挙げられる。この手法は、流路を進む試料液中の血液細胞に所定の照射光をビーム光として焦点を合わせて照射し、その結果得られる光散乱や光吸収度などの光学的特性から該血液細胞の識別を行なう手法である。

フローサイトメトリーを行いながら電気抵抗法をも行う方法（集光型フローインピーダンス法）は、白血球の4分類（LMNEマトリクス）の取得を行なうためには、好ましい方法である。図1に示した本発明の実施例では、LMNEセル27b内に集光型フローインピーダンス法を行うための流路やそれに対する光照射装置、受光装置、電極対が設けられ、白血球の4分類を行なうためのデータ（各血球毎の（容積、吸光度）のデータ対）の取得が可能となっている。

血球の計数結果は、制御部において適宜処理が施され、LMNEマトリクスなどのスキャッターグラムやヒストグラムなどとして表示される。

電気抵抗法、フローサイトメトリー、集光型フローインピーダンス法を行うための装置構成については、従来公知の技術を参照してよい。

【0028】

〔サンプリングノズルとその駆動機構〕

図1の例では、検体容器4、試薬容器20、22、21、CRPセル19、免疫測定用洗浄チャンバA、血球計数測定用セル（27a、27b、27c、27d）は、所定の位置に配置されており、サンプリングノズル（以下、「ノズル」とも呼ぶ）が各所定位置に移動しかつ上下移動して検体および試薬の吸引と吐出を行なえるようになっている。よって、ノズルの移動経路やプローブユニットの機構を複雑にせず、素早く処理し得る点からは、各所定位置は、図4（b）のように、一線上に整列していることが好ましい。

【0029】

ノズルは、ニードルとも呼ばれ、その先端を各容器やセルに差し込んで検体・試薬の吸引と吐出を行なうための細長い管である。ノズルの後端部は、配管によって、電磁弁部を通じて吸引・吐出ポンプに接続されている。

ノズルを所定の経路に沿って水平移動させかつ上下移動させるためのプローブユニット部13の機構は、特許文献1など従来公知の技術を参照すればよい。例えば、無端ベルト（ループ状のベルト）とされたタイミングベルトやVベルトなどによる直進機構、ボールネジによる直進機構、シリンダーによる直進機構、その他のアクチュエータによる直進機構、これらを組み合わせた駆動アームによる移動機構などが挙げられる。

図1の例では、図4と同様に、水平方向のタイミングベルト31と、上下方向のタイミングベルト37によって、ノズルが水平方向・垂直方向に移動できるようになっている。

ノズルは、一直線上に配設された試薬容器および各セルのほぼ真上を往復移動しながら、所定位置で上下して、検体および試薬の吸引と吐出、洗浄を行なう。このような動作は、コンピュータによって制御され、プログラムされたとおりに行われる。

【0030】

ノズル36には、ノズル洗浄器39が付帯している。

ノズル洗浄器は、環状の本体部分を有し、その中央孔内をノズルが通過している（該ノズルの先端部はノズル洗浄器の下方にある）。

ノズル洗浄器 39 は、水平方向にはノズル 36 に帯同して移動するが、上下方向については特定の高さに固定されている。よって、ノズル 36 が上下移動すると、ノズル洗浄器 39 の環状の本体部分は、相対的にノズルの外面を移動することになる。

好ましい態様例では、ノズルが最も下まで移動した状態で、ノズル洗浄器の環状の本体部分から希釈液が放出され、それによって、ノズルの外周面全体が洗い流されるようになっている。

【0031】

〔希釈洗浄液によるCRPセルの洗浄〕

希釈洗浄液によるCRPセルの洗浄（希釈洗浄液の内壁面への接触）は、1つの検体に関するCRP測定毎に行う。

希釈洗浄液によるCRPセルの洗浄のタイミングは、CRPセルの内壁面測定が完了し、検体液と試薬との混合液が排出された後のすすぎ洗浄の後、即ち、CRPセルでの全ての処理ステップが終了した後が好ましい。

図7に例示した従来のフローチャートでは、処理ステップの最後にステップa9としてCRPセルのすすぎ洗いが実行されている。このような処理ステップの場合には、希釈洗浄液によるCRPセルの洗浄は、該ステップa9の後に実行し、その後さらに、希釈液によるCRPセルのすすぎ洗いを実行するのが好ましい態様である。

【0032】

本発明において使用可能な洗浄液（原液）は、上記したラテックス試薬用の洗浄剤を含むものであればよい。該ラテックス試薬用の洗浄剤としては、例えば、次のものが挙げられる。

ブリッジ（Brij；ポリオキシエチレンラウリルエーテル系界面活性剤）、トリトン（Triton；ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル系界面活性剤）、ツイン（Tween；ポリオキシエチレンソルビタン系界面活性剤）などの界面活性剤。

エチレンジアミン四酢酸（EDTA）などの有機キレート化剤。

クエン酸、リン酸、塩酸などの酸。

サビナーゼ（Novozymes社製）などのタンパク質分解酵素。

通常ラテックス試薬用の洗浄液（原液）の組成は、上記のような洗浄剤を純水やエタノールなどの溶媒に溶解させたものである。

洗浄液（原液）に占める洗浄剤の含有比率（即ち、原液の洗浄剤濃度）は、洗浄剤と希釈液の組み合わせによっても異なるが、0.01重量%～2.0重量%程度が好ましく、0.5重量%～1.0重量%がより好ましい。

前記のような洗浄液は、例えば、ミノザイム5D、ミノザイムプラスなど、市販の洗浄液として入手可能である。

【0033】

本発明では、毎回のCRP測定の後、サンプリングノズル洗浄器から希釈液を所定量だけCRPセルに注入し、次に、洗浄液を所定量だけ注入するという手順によって、該セル内で所定の濃度に希釈した洗浄液を、該セルの内壁面に接触させることが重要である。

希釈洗浄液を得るために、先にCRPセルに注入しておく希釈液の量、および、後から注入する洗浄液の量は、CRPセル内の満たすべき部分の容積と、目的の希釈洗浄液の濃度に応じて、適宜決定すればよい。

希釈洗浄液における洗浄液（原液）の含有比率は、30重量%～60重量%が好ましく、40重量%～50重量%がより好ましい。

洗浄液の種類に起因する洗浄効果の差異によって、CRPセルの内壁面にラテックス粒子が堆積する傾向（CRP測定のための照射光の透過量が低下する傾向）があるならば、希釈の度合いを調節し、洗浄剤の濃度をより高くすればよい。逆に、CRPセルの内壁面のラテックス粒子を除去し過ぎる傾向（偽低値を示す傾向）があるならば、希釈の度合いを調節し、洗浄剤の濃度をより低くすればよい。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 4 】

C R Pセルに希釈洗浄液を注入する量（希釈液と洗浄液との合計の量）は、希釈洗浄液の液面がC R P測定のための照射光源から受光素子に至る光路の高さ以上となる量が好ましい。

【 0 0 3 5 】

本発明の好ましい態様では、既に希釈液が注入されたC R Pセルに対して、洗浄液が短時間で注入され、注入が完了した状態が所定維持され、次いで該洗浄液が短時間で排出される。これらの動作は、ポンプやバルブの制御によって行われる。

洗浄液を注入するときの時間は、3秒以下が好ましく、1～2秒がより好ましい時間である。注入に要する時間が長すぎると、内壁面が過度に洗浄され、逆に、洗浄液を過度に強く噴射して注入に要する時間を短くすると、その洗浄液の強い噴射によって周囲に溢れ出すなどの問題が生じる。

洗浄液の注入が完了した後、その注入完了状態の維持時間は、1秒間～5秒間が好ましく、1秒間～2秒間がより好ましい時間である。C R Pセルの内壁面に対する希釈洗浄液の接触時間は、この維持時間で調節することが好ましいが、注入時と排出時にも、希釈洗浄液がC R Pセルの内壁面に接触していることを考慮すべきである。

希釈洗浄液を排出する時間は、3秒以下が好ましく、2秒以下がより好ましい時間であり、できるだけ短い時間での排出が好ましい。

希釈洗浄液を上記のように極めて短い時間だけ、免疫測定用セルの内壁面に接触させることによって、該内壁面はラテックス粒子が適度に付着した状態が保たれ、免疫測定結果が偽低値となることを防止しながらも、定期洗浄の間隔をより大きくすることが可能になり、最も適切な条件下では、定期洗浄が不要になる。

洗浄液の注入時間、注入完了状態の維持時間、排出時間が、上記の範囲よりも長くなると、内壁面のラテックス粒子が過度に少なくなるので、偽低値が生じる場合があり、また、1検体当たりの処理時間も過度に長くなるので好ましくない。一方、注入完了状態の維持時間が上記の範囲よりも短いと、検体の測定を行うにつれて、内壁面にラテックス粒子が堆積し、従来ほど頻繁ではないが、C R Pセルの内壁面の定期洗浄が必要となる。

洗浄液の種類や希釈濃度に起因する洗浄効果の差異によって、C R Pセルの内壁面にラテックス粒子が堆積する傾向（C R P測定のための照射光の透過量が低下する傾向）があるならば、内壁面への接触時間をより長くすればよい。逆に、C R Pセルの内壁面のラテックス粒子を除去し過ぎる傾向（偽低値を示す傾向）があるならば、内壁面への接触時間をより短くすればよい。

【 0 0 3 6 】

上記のとおり、希釈洗浄液をC R Pセルの内壁面に接触させるときの重要な調整パラメータには、希釈洗浄液の濃度と、希釈洗浄液の接触時間がある。本発明の目的を達成するためには、これら2つのパラメータを互いに関連付けて調節する必要があり、濃度を高くすれば接触時間を短くすべきであり、濃度を低くすれば接触時間を長くすべきである。

本発明の重要な特徴は、毎回のC R P測定の後で所定濃度の希釈洗浄液をC R Pセルの内壁面に所定の微小時間だけ接触させることによって、毎回のC R P測定後のC R Pセルの内壁面の状態（ラテックス粒子の堆積状態）を一定に維持することにある。内壁面の状態が一定に維持されるように、希釈洗浄液の上記濃度と、希釈洗浄液の上記接触時間とを適宜選択して組み合わせ、必要に応じて、上記した範囲の中で、濃度の増減、接触時間の増減の微調整を行えばよい。ただし、希釈洗浄液の濃度を高くすると、少しの接触時間の差でも結果が大きく変わるので、時間に関する動作制御が厳しくなる。一方、希釈洗浄液の濃度を低くすると、毎回の接触時間が長くなり、検体の処理数が減少する。濃度の増減、接触時間の増減の微調整の際には、これらの点も考慮すべきである。また、洗浄液の消費量、吐出量のばらつきによる洗浄効果のばらつき、洗浄に要する時間をも考慮して、適度な洗浄効果が得られかつ洗浄に要する時間が長くなり過ぎないように、濃度の増減量、接触時間の増減量を調整することが好ましい。

【 0 0 3 7 】

C R Pセルにどのような経路にて洗浄液を注入するかは、特に限定はされないが、図1を用いて排出口について説明したように、C R Pセル19の排出口に電磁切替弁19c、19d、19fを接続し、これら電磁切替弁の切替動作と定注器19gとによって、洗浄液タンク19h内の洗浄液を排出口からC R Pセル19内に注入され得る構成が好ましい。

C R Pセルの下方から洗浄液を注入することによって、該C R Pセルの排出口に接続した攪拌用の管路（電磁切替弁19dから電磁切替弁19cを経てC R Pセルに至るまでの管路）を洗浄液の原液で洗浄することができる。また、先に希釈液が注入されたC R Pセルの下方から洗浄液を注入することによって、洗浄液の注入と攪拌とを兼用することができる。

10

【0038】

上記のように、洗浄液を下方の排出口からC R Pセルに注入する場合、全注入量を一度に短時間で注入しようとする、圧損によって、洗浄液が上方に激しく噴出し、C R Pセルの上部の開口から周囲に飛び散る場合がある。これは、C R Pセル下部の攪拌ラインの配管の内径が洗浄液を注入する配管の内径に比べて小さいため、洗浄液の注入の際、攪拌ラインにより大きい圧力がかかり易くなるからである。よって、洗浄液の注入は、2～4回程度（好ましくは3回程度）の複数回に分けて注入する構成が好ましい。

【0039】

次に、1検体あたりに要する測定処理時間をより短縮することを可能とする好ましい態様について説明する。

20

C R P測定を行うことによって、ラテックス粒子がC R Pセルの内壁面に付着するだけでなく、サンプリングノズルの外面、内面にも付着する。上記特許文献1には明記されていないが、従来では、C R P測定が全て終わった後の、ラテックス粒子が固着したノズルの最終的な洗浄（ノズルの内面の洗浄をも含んだ十分な洗浄：以下、「ノズルの最終洗浄」ともいう）は、C R Pセル19を用いて行っていた。

従来、ノズルの最終洗浄にC R Pセルが用いられていた理由は、検体同士のコンタミネーションを避けるためである。

図5、図6の3つのセル（C R Pセル19、W B Cセル27、R B Cセル28）のなかで、C R Pセルは、血球残存の可能性が最も少ないセルである。C R Pセルには、溶血試薬R1によって全ての血球を溶解させた検体液が投入されるだけであるから、血球が存在する可能性はほとんど無い。しかし、R B Cセルには赤血球が残存する可能性があり、また、廃液用チャンバを兼用するW B Cセルには、白血球が残存するだけでなく赤血球も残存する可能性がある。

30

よって、上記特許文献1の装置では、C R P測定の終了後、C R Pセル内を希釈液で洗い流した後で、ノズルの最終洗浄を行っている。このステップは、図7のフローチャートに、ステップa6～a8として示されたとおりであり、C R P測定とノズルの最終洗浄とが直列的に行われている。

上記特許文献1の全血血球免疫測定装置に対して、さらに、白血球5分類を行なうことが可能なように専用の測定セルが加えられた装置が開発されてきたが、そのような免疫測定装置であっても、ノズルの最終洗浄では、清浄な希釈液をC R Pセルに吐出し吸引し吐出するということのように希釈液の往復を行い、必要に応じて該希釈液を廃棄し再度希釈液の往復を繰り返すことが必要であり、その洗浄には約60秒を要している。

40

【0040】

図5、図6に示したような従来の全血血球免疫測定装置では、1検体あたりに要する処理時間は、約4分程度である。1検体あたり約4分という処理時間は、一般的な検査では何ら問題が無く好ましいものであるものの、1日に多量の検体を測定する必要がある機関では、たとえ数十秒でも時間短縮を行えば、1日の処理量は大きく増加する。

しかしながら、従来の全血血球免疫測定装置のサンプリングノズルの移動速度や吸引・吐出速度は適切であり、また、各処理ステップはいずれも必須であって、試薬による反応時間、測定時間、洗浄回数などには、削減できるような余地は無かった。

50

【 0 0 4 1 】

上記のような従来の構成に対して、本発明では、図 1 に示すように、ノズル 3 6 の最終洗浄のための専用チャンバ（免疫測定用洗浄チャンバ）A を新たに設け、CRP セル内で CRP 測定が行なわれている間に、該免疫測定用洗浄チャンバ A においてノズル 3 6 の最終洗浄を同時進行させる構成を提案する。

この同時進行の構成によって、ノズルの最終洗浄に要していた約 6 0 秒もの時間が短縮され、1 検体あたりの処理時間は、従来の約 4 分から約 3 分となる。

【 0 0 4 2 】

免疫測定用洗浄チャンバ A の追加およびその使用（免疫測定との同時進行的なノズルの最終洗浄）によって、測定処理時間が大幅に短縮される。また、それだけでなく、血液（とりわけ血球）が付着したノズルの洗浄と、免疫測定のために溶血試薬と混合されて血液（とりわけ血球）が残存していない液体が付着したノズルの洗浄とを、完全に分離することができ、最終洗浄を免疫測定用洗浄チャンバ A で行うことによって、他の検体とのコンタミネーションをより厳密に排除することが可能になる。

【 0 0 4 3 】

また、免疫測定用洗浄チャンバ A を設けたことにより、ノズルの最終洗浄のみならず、免疫測定に関する種々の試薬の吸引の後にも、該免疫測定用洗浄チャンバを利用して、ノズルの外面の洗浄を適宜行うことが可能となる。

免疫測定用セル 1 9 内において免疫測定が行われている間に、該免疫測定用洗浄チャンバ内において、該ノズル 3 6 の外面および内面の洗浄が行われるようにコンピュータ制御される。

【 0 0 4 4 】

免疫測定用洗浄チャンバは、ノズルの全長のうち、試薬などに浸漬される部分を十分に受け入れる深さを有するものであればよい。そのような深さは、ノズルによっても異なるが、例えば、2 0 mm ~ 8 0 mm 程度が好ましい深さである。

免疫測定用洗浄チャンバの胴体の形状は、特に限定はされないが、該チャンバ内に注入された液体が残存せず好ましく全て排出される点（廃液効率の点）からは円筒形が好ましい形状である。免疫測定用洗浄チャンバの胴体が円筒形である場合、その内径は、特に限定はされないが、1 0 mm ~ 2 0 mm 程度が好ましい値である。免疫測定用洗浄チャンバの内径が過度に大きいと、洗浄液の消費量が多くなり、チャンバ内に洗浄のための希釈液などを所定のレベルまで満たす時間が長くなり、また、装置の小型化に不利となるなど好ましくない。

一方、該内径が過度に小さいと、ノズルを水平方向に移動させるためのキャリッジ（ベルトなどの移動機構）に求められる停止位置の精度が厳しくなり、チャンバの内にノズルが降下しないことによる、ノズルおよび当該洗浄用チャンバの破損や、希釈液が飛散するリスクが高くなり好ましくない。

【 0 0 4 5 】

免疫測定用洗浄チャンバの材料は、耐薬品性や加工性を有するような材料であればよく、例えば、ポリ塩化ビニル（PVC）、ポリエチレンテレフタレート（PET）、ポリプロピレン（PP）などが挙げられ、コスト、加工性の点からは、PVC が好ましい材料として挙げられる。

【 0 0 4 6 】

免疫測定用洗浄チャンバの位置は、図 1 に示すように、免疫測定用セル（CRP セル）の隣であって、かつ、血球計数測定セルと免疫測定用セルとの間であることが、ノズルの移動を最小にする点で好ましい。

【 0 0 4 7 】

免疫測定用洗浄チャンバの下端部には、図 1 に破線で示すように、CRP セルと同様の排出管が接続され、廃液が電磁弁装置 1 2 およびポンプ P を通じて廃液容器 1 8 に送られる構成となっている。

【 0 0 4 8 】

10

20

30

40

50

免疫測定用洗浄チャンバでのノズルの最終洗浄の工程は、従来、CRPセルにおいて行っていた洗浄と同様である。即ち、清浄な希釈液を該チャンバに所定量吐出し、それを吸引し、再び吐出するというように希釈液の往復（好ましくは2～3回程度の往復）を行うことによってノズルの内面の洗浄を行う。必要に応じて汚れた希釈液を廃棄し、新たな希釈液を供給して該往復を繰り返してもよい。好ましい態様では、希釈液の廃棄は、1～2回程度である。このとき、ノズル洗浄器を作動させてもよい。

また、免疫測定用洗浄チャンバ内で、R1～R3試薬を吸引した段階でノズルを洗浄することもできる。

【0049】

希釈液は、生理食塩水やリン酸緩衝希釈液など、測定のための検体の希釈およびラテックス試薬（原液）の希釈に使用可能な液体であればよい。

ノズル洗浄器によるノズル外面の洗浄や、免疫測定用洗浄チャンバでのノズルの最終洗浄は、希釈液のみによるものであってよい。

【0050】

免疫測定用洗浄チャンバは、ノズルの最終洗浄のみならず、CRPセルに対する各試薬の分注のステップにおいても、ノズル洗浄器によるノズル外面の洗浄の受け口として用いてよい。換言すると、免疫測定用の各試薬の分注のステップにおいて、ノズルを免疫測定用洗浄チャンバの直上に移動させ、そこでノズル洗浄器が作動するようにしてもよい。

免疫測定用洗浄チャンバを用いた前記のような構成によって、チャンバ廃液動作の並行動作化や、キャリッジ移動距離短縮による、動作時間の短縮の利点がある。

【0051】

本発明の好ましい態様では、図1に示すように、検体洗浄用チャンバBがさらに設けられる。該検体洗浄用チャンバは、血球計数測定のための分注を行い血液が付着している可能性のある状態となっているノズルを洗浄するための専用のチャンバである。

検体洗浄用チャンバの形状寸法、材料は、上記した免疫測定用洗浄チャンバと同様であってよい。検体洗浄用チャンバの下端部にも、図1に破線で示すように、排出管が接続され、廃液が電磁弁装置12およびポンプPを通じて廃液容器18に送られる構成となっている。

【0052】

図1に示すように、免疫測定用洗浄チャンバと検体洗浄用チャンバとを使い分け、血液が付着している可能性のない状態のノズルは免疫測定用洗浄チャンバで洗浄し、血液が付着している可能性のある状態のノズルは検体洗浄用チャンバで洗浄することで、検体間のコンタミネーションがより高度に防止され、また、並行動作化による1検体当たりの処理時間の短縮といった利点も得られる。

【0053】

図2は、図1に示した免疫測定用洗浄チャンバAおよび検体洗浄用チャンバBを用いたノズルの洗浄の順序動作の一例を示したフローチャートである。

当該装置の各部の動作は、制御部（コンピュータ）の予め定められた命令に応じて、プローブユニットがノズルを水平・垂直に移動させ、電磁弁部が吸引と吐出を行う動作である。以下の説明では、ノズルの挙動については、重要な動きの場合を除いて、〔ある位置から上方に移動し、水平に移動し、下方に移動して次の位置に到達する〕などといった細かい動きの描写は省略し、単に〔ある位置から次の位置へと移動する〕と表現する。

【0054】

先ず、ユーザーによるスタートスイッチの入力操作によって、処理ステップが開始されると、ノズルはステップs1の動作を開始する。スタートスイッチの入力操作は、押しボタンの押し込みや他のコンピュータとの通信による遠隔操作など、どのような態様であってもよく、例えば、図3における検体容器セット部Cのフタを閉じる操作がスタートスイッチONを兼ねていてもよい。

【0055】

（ステップs1）

10

20

30

40

50

まず、ホームポジションにあったノズル36が、CRP測定のために動作し、R1試薬容器20に移動し、R1試薬を吸引する。

該吸引の後、該ノズルは免疫測定用洗浄チャンバA上へと移動し、その外面がノズル洗浄器によって洗浄される（ノズルは洗浄のために上下する）。

次に、ノズルは検体容器4に移動し、CRP測定のために、検体容器4内の検体（全血）を吸引する。

次に、ノズルは、検体洗浄用チャンバBへと移動し、その外面がノズル洗浄器によって洗浄される（ノズルは洗浄のために上下する）。

次に、ノズルは、CRPセルへと移動し、吸引した検体とR1試薬とをCRPセルに吐出する。その後、図1に好ましい態様として例示した定注器19eにて、CRPセル内の液を、引き込み、押し出し、引き込むというように往復させて攪拌する（その管路を作り出すように電磁切替弁19c、19dが切替え動作を行なう）。

次に、ノズルは、検体洗浄用チャンバBへと移動し、その外面がノズル洗浄器によって洗浄される。

【0056】

（ステップs2）

ノズルは、検体容器4に移動し、血球計数測定のために、検体容器4内の検体（全血）を吸引する。

次に、ノズルは、検体洗浄用チャンバBへと移動し、その外面がノズル洗浄器によって洗浄される。

次に、ノズルは、WBCセル27dへと移動し、吸引した検体を該セル内に分注する。同時に該セルの側面部に接続された配管（図示せず）から希釈液を該セル内に注入し、該セルの下部に接続された配管（図示せず）から、ポンプ（図示せず）にて空気を吐出して該セル内を攪拌する。

次に、ノズルは、BASOセル27aへと移動し、吸引した検体を該セル内に分注する。同時に該セルの側面部に接続された配管（図示せず）から好塩基球溶血剤を該セル内に注入し、該セルの下部に接続された配管（図示せず）から、ポンプ（図示せず）にて空気を吐出して該セル内を攪拌する。

次に、ノズルは、LMNEセル27bへと移動し、吸引した検体を該セル内に分注する。同時に該セルの側面部に接続された配管（図示せず）から好酸球測定試薬を該セル内に注入し、該セルの下部に接続された配管（図示せず）から、ポンプ（図示せず）にて空気を吐出して該セル内を攪拌する。

次に、ノズルは、検体洗浄用チャンバBへと移動し、その内面および外面がノズル洗浄器によって洗浄される。

【0057】

上記ステップs2においてWBCセル27d内で希釈された検体液の一部をRBCセル27cへ移送し、該RBCセルに接続された配管（図示せず）から希釈液を該セルに注入し、上記と同様、空気を吐出して該セル内を攪拌して希釈を完了する。その後、WBCセルにヘモグロビン溶血試薬を注入し、上記と同様、空気を吐出して該セル内を攪拌し、検体を溶血する。また、LMNEセルに接続された配管（図示せず）から希釈液を該セルに注入し、上記と同様、空気を吐出して該セル内を攪拌し、希釈を完了する。

【0058】

（ステップs21）

BASOセル27aでは、下部に設けられた電気抵抗法を行なう装置を検体液が通過し、好塩基球の計数が行なわれる。

LMNEセル27bでは、上部に設けられた集光型フローインピーダンス法を行う装置を検体液が通過し、リンパ球（L）、単球（M）、好中球（N）、好酸球（E）の各容積と吸光度が測定される。測定されデータは、制御部に送られ、LMNEマトリクスなどによる4分類のための計数処理が行われる。

RBCセル27cでは、下部に設けられた電気抵抗法を行う装置を検体液が通過し、各

10

20

30

40

50

赤血球や血小板数の数および容積が測定される。

WBCセル27dでは、比色法（ノンシアン法）における吸光度法を行うための光学装置により、ヘモグロビン濃度が測定される。また、下部に設けられた電気抵抗法を行なう装置を検体が通過し、白血球の数が測定される。測定されたデータは、制御部に送られ、度数分布の処理が行われる。

【0059】

（ステップs22）

BASOセル27aにおける測定の後処理のために、ノズルは該BASOセルに移動し、ノズル洗浄器から希釈液が該セル内に注入される。

【0060】

（ステップs3）

ステップs21での処理と並行して、ノズルは、CRP測定のためにR2試薬容器に移動し、R2試薬を吸引する。

次に、ノズルは、免疫測定用洗浄チャンバA上へと移動し、その外面がノズル洗浄器によって洗浄される。

次に、ノズルは、CRPセルへと移動し、吸引したR2試薬をCRPセルに吐出する。

次に、ノズルは、免疫測定用洗浄チャンバA上へと移動し、その外面がノズル洗浄器によって洗浄される。

【0061】

（ステップs4）

次に、ノズルは、CRP測定のためにR3試薬容器に移動し、R3試薬を吸引する。

次に、ノズルは、免疫測定用洗浄チャンバA上へと移動し、その外面がノズル洗浄器によって洗浄される。

次に、ノズルは、CRPセルへと移動し、吸引したR3試薬をCRPセルに吐出する。

次に、ノズルは、下記ステップs31における自体の洗浄のために、免疫測定用洗浄チャンバA上へと移動する。

【0062】

（ステップs5）

CRPセルでのCRP測定が開始される。測定終了までの処理時間は、約60秒である。

【0063】

（ステップs31）

CRPセルでのCRP測定が開始されると、ノズルは免疫測定用洗浄チャンバAの内部へと移動し、希釈液で該ノズルの内面および外面が十分に洗浄される。ここでは、希釈液を免疫測定用洗浄チャンバAに吐出し吸引し吐出するというように希釈液の往復を行い、必要に応じて該希釈液を廃棄し再度希釈液の往復が繰り返される。

【0064】

（ステップs6）～（ステップs7）

ノズルの最終洗浄が終了し、かつ、ステップs6におけるCRP測定が終了すると、ノズルはCRPセルに移動し、ステップs7として、CRPセル内を希釈液で洗浄する。

【0065】

（ステップs8）～（ステップs9）～処理ステップの終了

CRPセル内の希釈液による洗浄が終了すると、ステップs8として、ノズル洗浄器から希釈液がCRPセルに所定量だけ注入される。次に、電磁切替弁が作動し、CRPセルに洗浄液が規定の液面高さまで注入されて希釈洗浄液が作り出され、その後、所定時間だけ維持された後、すみやかに排出される。

次に、ステップs9として、CRPセル内が希釈液ですすぎ洗いされ、処理ステップが完了する。

【0066】

以上、図2のフローチャートに沿って説明を行ったとおり、本発明では、1つの検体に

10

20

30

40

50

ついでに免疫測定処理の最後に、CRPセルに希釈液の注入とそれに続く洗浄液の注入が行われ、そこで作り出された希釈洗浄液がCRPセルの内壁面に接触するように制御されている。これによって、定期洗浄の間隔が大幅に伸び、好ましい態様では、定期洗浄が無用になる。

さらには、免疫測定用洗浄チャンバが新たに設けられ、さらには検体洗浄用チャンバが設けられ、これらが血液の付着の有無に応じて完全に使い分けられるように制御されている。よって、免疫測定用洗浄チャンバには血液の混入の可能性が十分に小さくなっている。また、免疫測定用洗浄チャンバ内での十分な時間をかけたノズルの最終洗浄が、全処理ステップに影響しないようになっている。

【0067】

〔実験例〕

図1に示す構成の装置を用い、図2に示すフローに従って、1検体毎に測定の最後にCRPセルの内壁面に洗浄液を作用させ、各検体毎のCRP測定におけるブランク吸光度を測定し、その変化の度合いを調べた。

用いたR3試薬は、プロイムキットCRP（株式会社堀場製作所製）のR3試薬（抗ヒトCRPポリクローナル抗体（ウサギ）感作ラテックス（ポリスチレン粒子）を含有する試薬）である。

用いた洗浄液は、主要界面活性剤としてブリッジ（ポリオキシエチレンラウリルエーテル）を0.25重量%含有し、酵素としてサピナーゼを0.5重量%含有する洗浄液である。

洗浄液をCRPセルに注入する際には、先に希釈液（ディルエント）を注入して希釈した。洗浄液と希釈液の混合比率は、体積比で4：5（希釈洗浄液に占める洗浄液の濃度は約45重量%）である。

洗浄液の注入時間は1秒、維持時間は2秒、排出時間は1秒とした。

最初の検体の測定におけるブランク吸光度を1としたときの、その後の検体の測定におけるブランク吸光度の比率を図4のグラフに印「」でプロットして示す。

同図のグラフから明らかなどおり、ブランク吸光度は、最初の検体の測定におけるブランク吸光度と比べて著しい低下を示さず、検体数100を越えても定期洗浄が必要無いことがわかった。

また、ラテックス粒子の過度の除去に起因する偽低値も生じないこともわかった。

【0068】

〔比較例〕

1検体毎の測定の最後のCRPセルの洗浄を、従来どおり希釈液だけで行ったこと以外は、上記の実験例と全く同じ条件にて、各検体毎のCRP測定におけるブランク吸光度を測定し、その変化の度合いを調べた。

希釈液によるCRPセルの洗浄の仕方は、従来の一般的な洗浄法に従い、該セルの上方から希釈液を注入し排出する単純な洗浄を2回繰り返すというものである。

上記実験例と同様、最初の検体の測定におけるブランク吸光度を1としたときの、その後の検体の測定におけるブランク吸光度の比率を図4のグラフに印「」でプロットして示す。

同図のグラフから明らかなどおり、ブランク吸光度は、最初の検体の測定におけるブランク吸光度と比べて著しく低下し、定期洗浄が必要であった。

【産業上の利用可能性】

【0069】

本発明によって、ラテックス粒子の過度の除去に起因する偽低値の発生を抑制しながらも、ラテックス粒子の堆積を抑制でき、よって、CRPセルの定期洗浄の間隔をより大きくすることができ、該定期洗浄を無くすことも可能になった。

また、本発明の好ましい態様である免疫測定用洗浄チャンバによるノズルの最終洗浄の並行処理によって、従来の処理ステップを全て維持しながらも、1検体あたりに要する測定処理時間を大幅に短縮することも可能となった。

10

20

30

40

50

これらによって、多量の検体を測定する医療機関等に対して、好ましい全血血球免疫測定装置を提供することが可能になった。

【符号の説明】

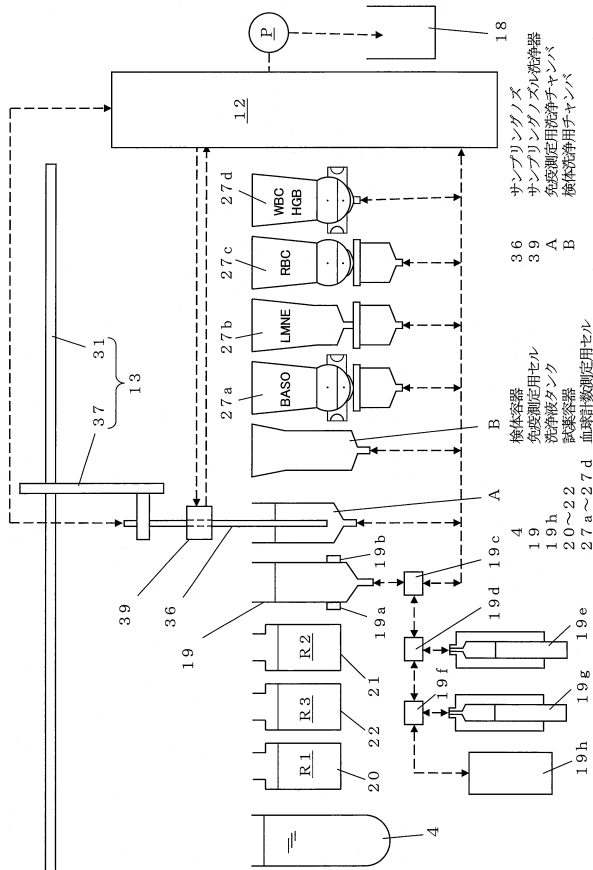
【0070】

- 4 検体容器
- 19 免疫測定用セル（CRPセル）
- 19c 電磁切替弁
- 19d 電磁切替弁
- 19e 攪拌用の定注器
- 19f 電磁切替弁
- 19g 洗浄液注入用の定注器
- 19h 洗浄液タンク
- 20 試薬容器（R1試薬）
- 21 試薬容器（R2試薬）
- 22 試薬容器（R3試薬）
- 27a～27d 血球計数測定用セル
- 36 サンプリングノズル
- 39 サンプリングノズル洗浄器
- A 免疫測定用洗浄チャンバ
- B 検体洗浄用チャンバ

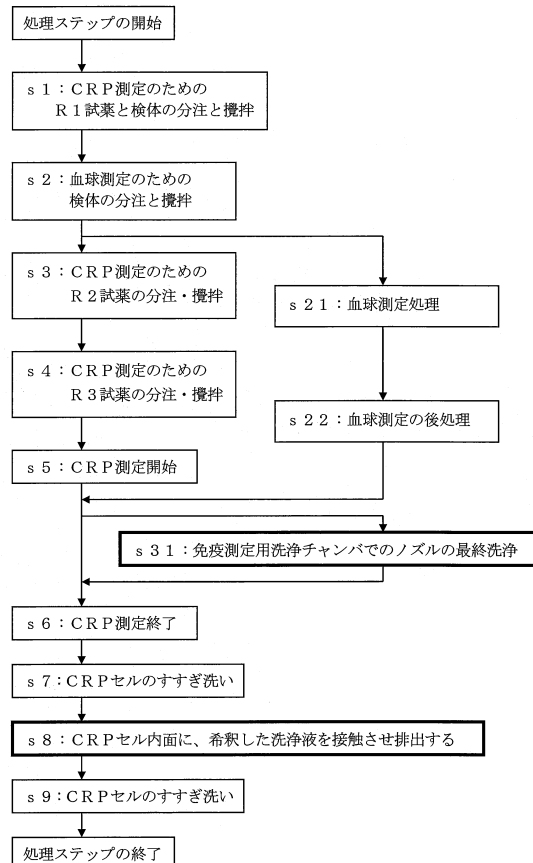
10

20

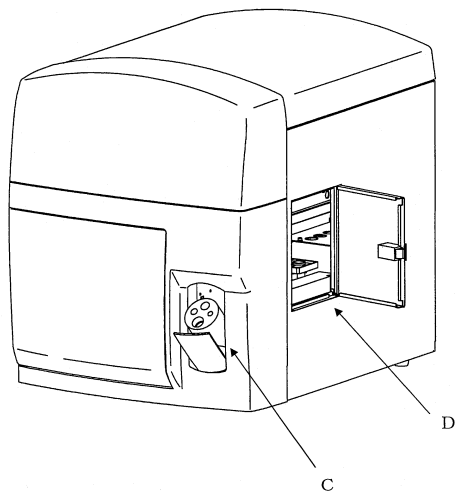
【図1】



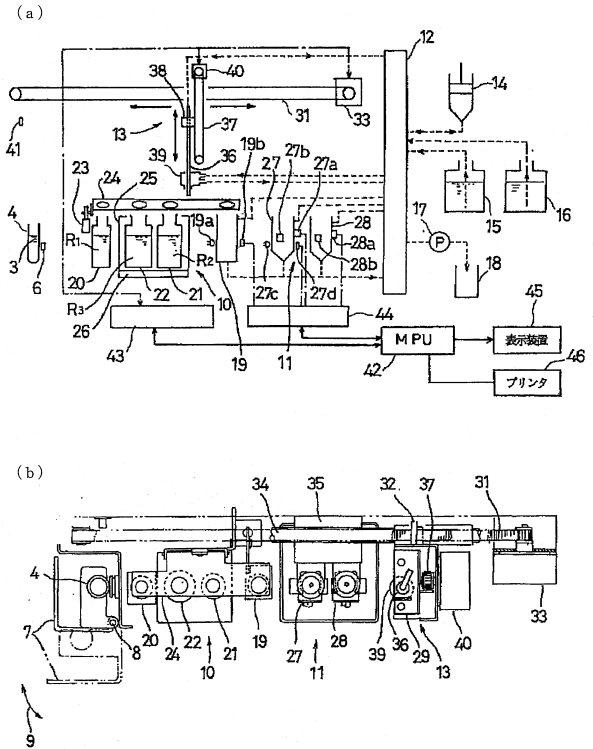
【図2】



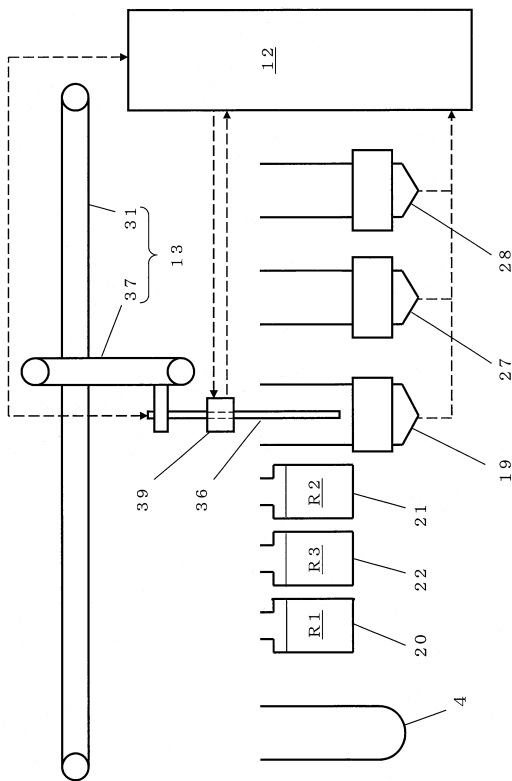
【図3】



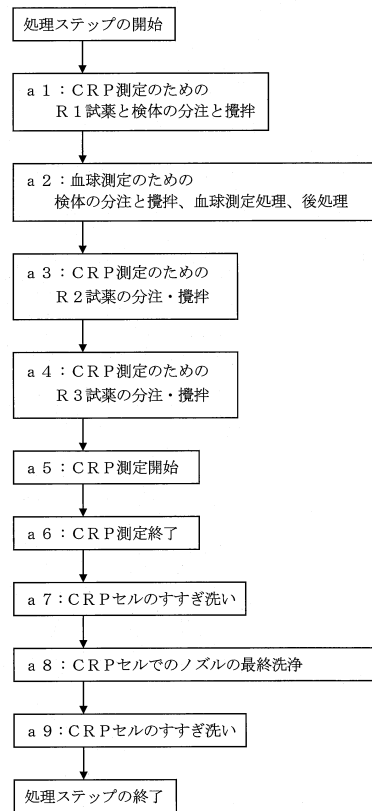
【図5】



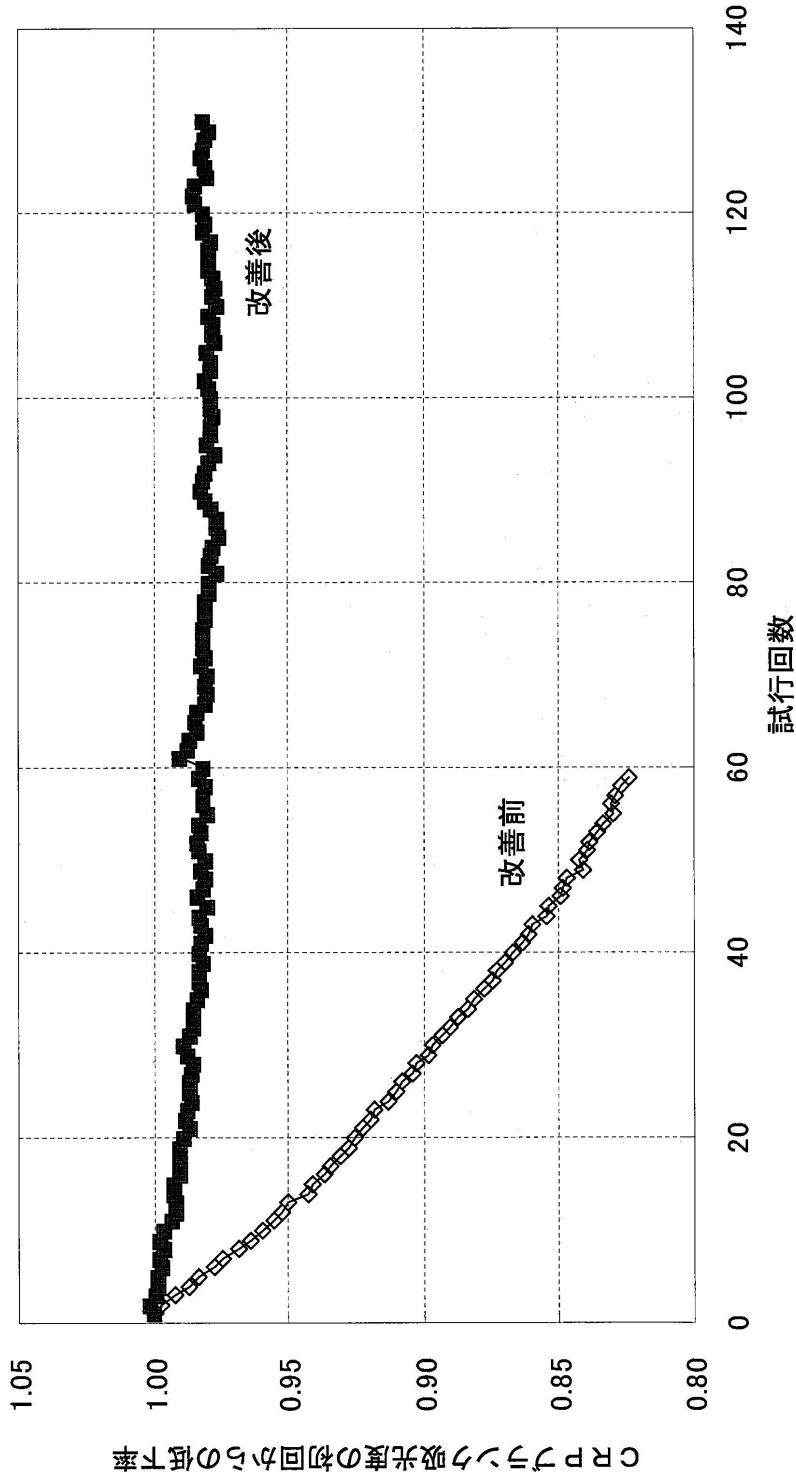
【図6】



【図7】



【 図 4 】



フロントページの続き

(74)代理人 100163658

弁理士 小池 順造

(74)代理人 100174296

弁理士 當麻 博文

(72)発明者 竹本 和正

京都府京都市南区吉祥院宮の東町2番地 株式会社堀場製作所内

審査官 海野 佳子

(56)参考文献 特開平11-108923(JP,A)

特開2004-004098(JP,A)

特開2003-226893(JP,A)

特開平09-113516(JP,A)

特開平07-333228(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/48-33/98

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CPlus/MEDLINE/BIOSIS(STN)

专利名称(译)	全血血球免疫测定装置		
公开(公告)号	JP5805136B2	公开(公告)日	2015-11-04
申请号	JP2013104028	申请日	2013-05-16
[标]申请(专利权)人(译)	株式会社堀场制作所		
申请(专利权)人(译)	株式会社堀场制作所		
当前申请(专利权)人(译)	株式会社堀场制作所		
[标]发明人	竹本和正		
发明人	竹本 和正		
IPC分类号	G01N33/49 G01N33/53 G01N35/10		
CPC分类号	G01N33/491 G01N33/5304 G01N35/04 G01N35/10 G01N35/1004 G01N2015/1006 G01N2035/0437 G01N2333/46		
FI分类号	G01N33/49.G G01N33/53.X G01N35/06.F G01N35/10.F		
F-TERM分类号	2G045/AA04 2G045/AA13 2G045/CA01 2G045/DA36 2G045/FA34 2G045/FB03 2G058/AA09 2G058/EC07 2G058/FB07		
代理人(译)	高岛肇 山本健二 当麻 博文		
其他公开文献	JP2014224754A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

每次进行试样的免疫测量处理时，稀释的清洁溶液与免疫测量单元19的内壁表面接触。因此，预先注入稀释液，然后注入清洁液，由此在免疫测量单元中生成稀释的清洁液。结果，免疫测量单元的内壁表面保持在优选状态，并且可以延长常规清洁的间隔。

(21) 出願番号	特願2013-104028 (P2013-104028)	(73) 特許権者	000155023
(22) 出願日	平成25年5月16日 (2013. 5. 16)		株式会社堀場製作所
(65) 公開番号	特開2014-224754 (P2014-224754A)		京都府京都市南区吉祥院宮の東町2番地
(43) 公開日	平成26年12月4日 (2014. 12. 4)	(74) 代理人	100080791
審査請求日	平成26年6月11日 (2014. 6. 11)		弁理士 高島 一
		(74) 代理人	100125070
			弁理士 土井 京子
		(74) 代理人	100136629
			弁理士 鎌田 光宣
		(74) 代理人	100121212
			弁理士 田村 弥栄子
		(74) 代理人	100122688
			弁理士 山本 健二
		(74) 代理人	100117743
			弁理士 村田 美由紀