

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5452504号
(P5452504)

(45) 発行日 平成26年3月26日 (2014.3.26)

(24) 登録日 平成26年1月10日 (2014.1.10)

(51) Int.Cl. F I
GO 1 N 33/543 (2006.01) GO 1 N 33/543 5 8 1 Z
GO 1 N 33/53 (2006.01) GO 1 N 33/53 T
 GO 1 N 33/53 K

請求項の数 12 (全 13 頁)

(21) 出願番号	特願2010-545055 (P2010-545055)	(73) 特許権者	501131014
(86) (22) 出願日	平成21年1月15日 (2009.1.15)		オーソークリニカル・ダイアグノスティック クス・インコーポレイテッド
(65) 公表番号	特表2011-512524 (P2011-512524A)		Ortho-Clinical Diag nostics, Inc.
(43) 公表日	平成23年4月21日 (2011.4.21)		アメリカ合衆国、14626-5101
(86) 国際出願番号	PCT/US2009/031034		ニューヨーク州、ロチェスター、インディ ゴ・クリーク・ドライブ 100
(87) 国際公開番号	W02009/097188		100 Indigo Creek Dr ive, Rochester, NY
(87) 国際公開日	平成21年8月6日 (2009.8.6)		14626-5101, U. S. A.
審査請求日	平成23年11月10日 (2011.11.10)	(74) 代理人	100088605
(31) 優先権主張番号	12/022, 349		弁理士 加藤 公延
(32) 優先日	平成20年1月30日 (2008.1.30)	(74) 代理人	100130384
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 大島 孝文

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 表示する印を有する免疫診断試験カード

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

免疫診断試験カードにおける凝集反応を等級付けする方法であって、前記試験カードは、少なくとも1つの透明なカラムを含み、前記少なくとも1つのカラムは、患者サンプルと混合されると凝集反応を生じさせることができるある量の試験物質を最初に収容する、方法において、

試験カードの前記少なくとも1つの透明なカラムに対して印を設ける工程であって、前記印は、一式の離間した平行な線を含み、前記線それぞれの間の間隔が、前記凝集反応の等級を定める、工程と、

前記少なくとも1つの透明なカラムに患者サンプルを加える工程と、

前記少なくとも1つの透明なカラムの中身と前記患者サンプルを混合する工程と、

前記印と比べて凝集物に視覚的に注意することにより、前記反応を等級付けする工程と、

を含む、方法。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の方法において、

前記等級付けする工程は、視覚的に、または機械視覚によって、行なわれる、方法。

【請求項 3】

請求項 2 に記載の方法において、

前記少なくとも1つの透明なカラムは、成型可能なプラスチック材料から作られ、

前記方法は、
前記印を、前記少なくとも1つの透明なカラムへと直接成型する工程、
を含む、方法。

【請求項4】

請求項3に記載の方法において、
前記印は、少なくとも1つの、隆起するかまたはくぼんだ表面を含み、
前記方法は、
機械視覚によって、前記少なくとも1つの、隆起するかまたはくぼんだ表面を検知する
工程、
を含む、方法。

10

【請求項5】

請求項4に記載の方法において、
間に間隔を有する一式の離間した平行な線により画定された、複数の、隆起するかまたはくぼんだ表面を含み、前記線は、等級付けゾーンを画定するために前記少なくとも1つの透明カラムに関連して前記少なくとも1つの透明なカラムの上に配される、方法。

【請求項6】

請求項1に記載の方法において、
前記少なくとも1つの透明なカラムに隣接して印を設ける工程、
を含む、方法。

【請求項7】

請求項1に記載の方法において、
前記印を前記試験カード上にエッチングする工程および前記印を前記試験カード上に印刷する工程のうち少なくとも一方を含む、方法。

20

【請求項8】

請求項1に記載の方法において、
前記患者サンプルを加える工程の前に、ある容量の試験物質を、前記少なくとも1つの透明なカラムの内部に加える工程、
をさらに含み、
前記印は、十分な量の試験物質が前記少なくとも1つのカラムに加えられたかをさらに定める、方法。

30

【請求項9】

請求項8に記載の方法において、
前記印は、少なくとも1つの、隆起するかまたはくぼんだ表面により画定される、方法。

【請求項10】

請求項9に記載の方法において、
前記少なくとも1つの、隆起するかまたはくぼんだ表面を検知するための機械視覚システムを使用する工程と、
前記試験物質を加える工程を前記検知する工程と調和させる工程と、
を含む、方法。

40

【請求項11】

請求項1に記載の方法において、
所定の場所に印を適用する工程と、
前記印に基づいて製品ラベルを位置付ける工程と、
を含む、方法。

【請求項12】

請求項8に記載の方法において、
前記少なくとも1つのチャンバ内の試験物質の高さを前記印と比較して、蒸発作用が前記試験カードの使用前に存在したかどうかを判断する工程、
をさらに含む、方法。

50

【発明の詳細な説明】

【開示の内容】

【0001】

〔発明の分野〕

本発明は、免疫診断試験の分野に関し、より詳細には、患者サンプルを試験し、凝集反応を生じさせるのに使用される複数の透明なチャンバを有する免疫診断試験カードに関し、このカードは、各反応を客観的に等級付けするための印をさらに含む。

【0002】

〔発明の背景〕

いわゆる「ゲル」カードまたは「ビーズ」カセットは、例えば免疫血液学試験の分野で、血液型決定、血液型分類、および/または特定の抗原もしくは抗体の検知のための試験要素として、現在一般的に使用されている。これらの試験要素は、一般的に、試験チャンバを画定する複数の透明なマイクロチューブまたはカラムを有する平らな平面状の基板により画定される。予め決められた量の不活性なビーズまたはゲル物質が、各マイクロチューブに加えらる。この不活性物質は、抗体もしくは抗原でコーティングされるか、あるいは担体結合抗体もしくは抗原、または特定の試薬を備えることができる。典型的には、ホイルラップを使用して、カードまたはカセットの上部を覆い、それにより、試験時まで各マイクロチューブの中身を密封する。ホイルラップは、穿刺可能または別様に除去されて、一定分量の患者サンプルおよび/または試薬が、手動で、または自動機器において、各マイクロチューブに加えらるることを可能にする。サンプルはインキュベートされ、その後、遠心分離により試験チャンバの中身の中に混ぜ込まれる。遠心分離中、各反応チャンバ中の赤血球(RBC)が、ゲルカラム内へ引き入れられる。凝集したRBCは、凝集塊のサイズによっては、ゲルマトリックスを通過するには大きすぎるが、凝集していないRBCは、チャンバ底部でゲルおよびペレットを容易に通過するであろう。

【0003】

等級付けシステムは、ゲルカラムのどこかで捕捉されたRBC凝集物については、結果として生じた凝集反応に関して使用される。陽性反応は、0~4+で等級付けされ得る。より具体的には、4+反応は、ゲル上部におけるRBCの連続したバンド(solid band)により示される。3+反応は、ゲルカラムの上半分における凝集RBCを示す。2+カラムは、カラムの長さ全体に分散されたRBC凝集物により特徴付けられる。1+カラムは、ゲルカラムの主に下半分におけるRBC凝集物により示され、いくらかの凝集RBCが、カラムの底部でペレット状になっている。陰性(0)反応は、マイクロチューブの底部におけるRBCのペレットにより特徴付けられ、カラムの長さに沿って凝集物がない。試験過程では、結果として生じる反応は、極めて陽性である(すなわち、形成された凝集物の全てまたは大部分が、不活性物質層より上に配されている)か、または、極めて陰性である(すなわち、凝集が結果として生じず、全細胞がペレットとしてマイクロチューブの底部に位置する)ことができる。これらの反応の勾配も生成され、形成された凝集物は、ゲル/ビーズマトリックス全体にわたりどこでも分配されてよく、この分配は、極めて陽性であるか、またはわずかに陽性であるとして、等級付けされなければならない。

【0004】

とりわけ、DiaMed, Inc.およびMicro-Typing Systems, Inc.により製造されたものなどの免疫診断試験カードを用いた凝集反応の等級付けは、例えば極めて陽性でも極めて陰性でもない凝集反応については、いくらか困難である。等級付けが最も困難なものの中には、4+反応と3+反応との間、および1+反応と陰性(0)反応との間の反応がある。最終的には、このような判断は、試験カードまたはカセットが手作業で読み取られる場合は特に、使用者に大いに依存するようになり、カラム内の凝集物位置についてプロセスを極めて客観的にし、かなりの経験を有する使用者が一貫した結果を得るために読取作業を行うことを必要とする。さらに、カードまたはカセット表面は典型的には、全体にわたり比較的滑らかであるので、自動装置の画像処理アルゴリズムが視野内でカラムの厳密な位置を正確に突き止めることは困難であることが多い。例示的な画像処理アルゴリズムは、例

10

20

30

40

50

例えばShenらの欧州特許第0 6 3 7 7 4 4号に記載されている。この知覚された困難さは、適切な照明システムのデザインにさらなるコストを課す。不正確な判断をすると、例えば輸血のため適切な血液サンプルを判断する場合に、恐ろしいまたは致命的な結果を生じる場合がある。

【0005】

前述のような試験要素の製造も、適量の不活性物質を各マイクロチューブ内に加えることに依存する。この製造プロセスは自動化されてよいが、依然としてエラーが生じる場合がある。例えば、分配機構が試験要素に対して不適切に位置付けられ得るか、あるいは、公差確立の問題がカードまたはカセットの製造において生じている場合があり、充填容積 (fill volume) およびラベル配置について製造過程の製造チェックが必要となる。不適切な量の不活性物質がマイクロチューブのいずれかに提供される場合、結果として生じる凝集反応から等級付けした結果は、正確ではないかもしれない。とりわけ、そのような理由から、免疫診断試験カードおよびカセットのデザインを改善することが望ましい。

【0006】

〔発明の概要〕

したがって、一態様によると、免疫診断試験要素、より具体的には試験カードまたはカセットを製造する方法が記載される。この製造方法は、平坦な基板を形成する工程であって、この基板は、少なくとも1つの透明な支持ウェルを含む、工程と、少なくとも1つの透明なウェル上に複数の印を設ける工程と、ある容量の試験物質を、少なくとも1つのウェルの内部に加える工程と、を含む。印は、この方法に従って使用されて、適切な量の物質が、各反応ウェルに加えられたことを示す。この印は、透明なウェルもしくはカード/カセット自体の中に印を一体的に成型することによって、または印をカラム上もしくはカラムに隣接して直接位置させることができる他の手段によって、加えられ得る。この印は、複数の直線状に離間した線の形態であってよく、あるいは、他の形態を用いて、使用者/製造業者に視覚的な標識を与えることができる。

【0007】

別の態様によると、免疫診断試験カードを用いて凝集反応を等級付けする方法が説明され、この試験カードは、試験物質を保持する少なくとも1つのカラムを含む。この方法は、試験カードの少なくとも1つのカラムそれぞれに対して一式の印を設ける工程と、患者サンプル、および、ことによると試薬、を各カラムに加える工程と、患者サンプルと試験物質との間で凝集反応を生じさせるために患者サンプルをカラムの中身と混合する工程と、印に対する、カラム内部の形成凝集物の位置に視覚的に注意することにより、反応を等級付けする工程と、を含む。この印は、一実施形態によると、各カラムの外側表面に直接与えられて、測定尺度または視覚的基準を使用者または自動システムに与えることができる。印は、いくつかの形態のうち1つをとることができる。例えば、標識マークが、カラム内部に直接、またはカラムに隣接して、カラムに沿った所定の場所に設けられ得る。標識マークは、カラムへと直接成型されてよく、または代わりに、印刷、レーザーエッチング、もしくは他の適切な手段によるなどして、別々に施されて、カラム内の形成凝集物の位置に関して、より正確な等級付け (gradation) を与えることができる。標識マークは、形状が直線状であってよく、または、いくつかの便利な形態のうち1つをとることができる。これらのマークは透明であるか、または代わりに、含有される試験物質マトリックスに対する凝集物の位置をよりよく可視化するために着色されることができる。別の例では、印は、1つ以上の、隆起するかまたはくぼんだマークを含んでよく、滑らかなカード表面とは異なるレリーフを作る。このレリーフは、例えば既知の長さおよび間隔の線を用いて、自動機械視覚装置の照明システムによって、視覚データとして、より容易に認識される。この印は、自動装置の画像処理アルゴリズムがカードのカラムを視野で突き止めるかまたは「見つける」ことを助ける。画像処理アルゴリズムは、次に、印に対する凝集物の位置を正確に判断し、反応等級を適切に計算することができる。隆起したマークとしての印はまた、カードの滑らかな表面を中断させ、装置の照明システムから放たれた光が反射する移行点 (transition point) を与える。この反射は、装置の画像処理ソフトウェアに

10

20

30

40

50

よりエッジとしてより容易に観察され、それにより、照明システムのコストおよび複雑さが低減される。

【 0 0 0 8 】

本明細書で説明される試験カードデザインにより実現される1つの利点は、試験要素の読取、特に試験要素の手作業による読取における、主観性および「スキル」が、実質的に排除されることである。すなわち、試験要素の手作業による読取は、確かな視覚的基準および測定尺度を設けることにより改善され、それにより、改善され、反復可能な結果および精度が生じる。

【 0 0 0 9 】

別の利点は、試験カードおよびカセットを、先に知られているバージョンよりも効率的に製造することができることである。与えられる標識マークまたは他の印は、製造過程の視覚的または機械視覚システムと共に使用されて、カラム内のゲルまたはビーズ（または他の懸濁マトリックス）の充填容量の精度をさらに容易に判断することができる。標識マークまたは他の印はまた、カードまたは試験カセットに関する一貫したデータを提供して、製品ラベルが試験カード上に正確に位置付けられているかどうかを、製造過程の視覚的システムが判断するのを助ける。さらに、本明細書に記載したような印の組み込みは、品質保証の尺度として印を含まないカードを前もって拒絶するために、自動装置によって使用されることもできる。

10

【 0 0 1 0 】

さらに別の利点は、使用される印が、容易に推定され得る、試験要素製造後の含有試験物質の蒸発に関連する指標も与え、それにより、実施される試験の質をよりよく保証することができることである。

20

【 0 0 1 1 】

これらの特徴および利点、ならびに他の特徴および利点は、添付図面と併せて読まれるべき、以下の詳細な説明から容易に明らかとなる。

【 0 0 1 2 】

〔 詳細な説明 〕

以下の説明は、改善された免疫診断試験カードまたはカセットに関し、このカードまたはカセットは、いくつかある用途の中でも、抗体スクリーニングおよび識別、A B O 式血液型分類および R h 表現型検査 (phenotyping)、逆血清分類 (reverse serum grouping)、直接抗グロブリン試験および抗原型分類などの血液バンク適用の目的で、使用者および/または自動装置が、サンプル凝集反応をよりよく可視化および等級付けするのを可能にするため、印を含む。この印はまた、免疫診断試験カードまたはカセットの製造に関する態様をより効果的に制御および維持する手段を提供する。本明細書で検討した発明の態様の範囲内である利用可能な変形および改変があることは当業者には容易に明らかであろう。例えば、本明細書に記載する実施例では、試験される患者サンプルは、赤血球 (R B C) または血清であるが、患者サンプルは、限定するものではないが、羊水、髄液、尿、血漿、および血清、または凝集反応を生じさせることができる任意の他の体液といった、他の体液を含み得る。さらに、添付図面に関して適切な基準枠をもたらすために、いくつかの用語が全体にわたり使用されている。これらの用語は、明確に示した場合を除き、本明細書の特許請求の範囲により包含される概念を限定することを意図するものではない。

30

40

【 0 0 1 3 】

図1を参照すると、背景説明 (background) の目的で、先行技術の免疫診断試験要素、この場合はゲルカード10が示されている。図示のゲルカード10は、実質的に平らな平坦部材14または基板により画定され、平坦部材14または基板は、複数のマイクロチューブまたはカラム18をさらに含み、マイクロチューブまたはカラム18はそれぞれ、平行に、また試験カードの上面22および底面26に対して垂直な向きで、配列される。ゲルカード10および支持マイクロチューブ18自体の材料は、必ずしも重要ではない。一実施形態では、マイクロチューブ18は、ポリエチレン、ポリスチレンまたはPVCなどの透明なプラスチック材料から形成され、プリスターパッケージにより一体的に製造され

50

、一方、基板は、ポリスチレンまたは同様の構造の材料から製造される。マイクロチューブ18はそれぞれ、実質的に円筒形のウェル30により画定され、ウェル30は、カード10の上面22から、閉じた下方円筒形部分42まで下向きに延びる、端部が開口した上方円筒形部分34を含む。上方円筒形部分34は、上方部分と下方部分との中間の、内側にテーパ状になった部分または移行部分36まで延びるいくらか一定した直径を有し、下方部分42は、上方部分の直径より小さい直径を含む。図1に示す免疫診断ゲルカード10は、合計6(六)個の、垂直に配されたカラム(マイクロチューブ)を含むが、この数は、実施されるべき試験に応じて適切に変えられてよい。

【0014】

ゲルカード10は、カードの、向き合う1つの側(one facing side)に粘着的に付着する製品ラベル15をさらに含み、このラベルは、カードの種類、ロット情報、および使用期限などの関連情報を含み、視覚により読み取り可能なセクション、およびバーコードセクション16などの機械で読み取り可能なセクションの双方を有する。

【0015】

画定された試験チャンバ30それぞれの内部には、ある量の試験物質46が提供され、試験物質46は、患者サンプルと反応を起こし、凝集物を分離する手段を提供する。図1に示された特定のゲルカードでは、このカラムは約15mmの長さ、4mmの幅である。各カラムは、LISSまたは食塩水などの緩衝溶液中で調製されたデキストランアクリルアミドゲルを収容している。このゲルは、他の要素：アジ化ナトリウムなどの保存料、ウシ血清アルブミンなどの沈降用薬剤(sedimenting agents)、および、場合によっては、抗IgGもしくは他のRBC特異的抗血清(ABOおよびD)などの特定の試薬、も含有し得る。試薬が加えられた場合、試薬は、ゲルカラムの長さ全体にわたって分散する。したがって、ゲルカラムは、約75%が固まったゲル(packed gel)で、25%が液体である。試験物質46は典型的には製造業者により提供されており、穿刺可能なホイルラップを用いて、カードおよび各マイクロチューブ18の上側を覆い、中身を密閉する。自動装置では、ホイルラップが穿刺され、患者サンプル、および、ことによると試薬が加えられ、次に、試験カードが遠心分離されて凝集反応を加速する。

【0016】

先に述べたように、この試験要素10は、試験物質を含み、サンプルに対して凝集反応を生じさせることができる、少なくとも1つの支持カラムを含むものの例示的なものである。そのために、不活性試験物質および関連する試験プロセスに関する特徴を含む、試験カードまたはカセットの例が、米国特許第5,338,669号、同第5,460,940号、同第5,512,432号、および同第6,114,179号にさらに詳細に記載されており、これらの特許の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。反応は、試験チャンバの上部34、または下方部分42で生じることができ、反応強度は、ゲルカラムにおける形成凝集物の位置により、または、凝集物がないことにより、測定される。

【0017】

前述の特許に記載されるような、また、図1に示されるような、試験カードの試験後には、強い陽性反応と強い陰性反応との間の範囲に及ぶ様々な等級の凝集反応があり、強い陽性反応と強い陰性反応の間には勾配がある。先に示したように、ゲルカラム内のどこかで捕捉され、参照符号50で概して標識されるRBC凝集物に関する、結果として得られた凝集反応について、等級付けシステムを使用する。陽性反応は、0~4+で等級付けされ得る。より具体的には、4+反応は、ゲルの上部におけるRBCの連続したバンドにより示される。3+反応は、ゲルカラムの上半分における凝集RBCを示す。2+カラムは、カラムの長さ全体にわたり分散されたRBC凝集物により特徴付けられる。1+カラムは、主にゲルカラムの下半分におけるRBC凝集物により示され、いくらかの凝集RBC50がカラムの底部でペレット状になっている。陰性(0)反応は、マイクロチューブの底部におけるRBCペレットにより特徴付けられ、カラムの長さに沿って凝集物は存在しない。試験過程において、得られた反応は、極めて陽性(すなわち、形成凝集物の全てまたは大部分が不活性物質層より上に配される)、または極めて陰性(すなわち、凝集が

10

20

30

40

50

生じず、全細胞がマイクロチューブの底部にペレットとして位置する)であることができる。個別の反応の判断は、前記に示した試験カード10を用いて、一人以上の人間により視覚的に、または、Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.により製造されるProVue(登録商標)などの様々な自動装置に設けられるような機械視覚を通じて、行われてよく、機械視覚システムは、照明システムを含む。

【0018】

図2を参照すると、免疫診断試験カード70が示され、カード70は、先行技術に従って作られた第1組の支持カラム74と、標識マーク82の形態の印を有する第2組の支持カラム78と、を比較目的で含む。マーク82は、以下の部分でさらに詳細に説明するように、反応等級を定める目的で設けられてよい。この特定の実施形態によると、支持カラムおよび試験基板はそれぞれ、ポリスチレン、PVC、またはポリエチレンなどの成型可能なプラスチック材料から作られている。カラム74および78はそれぞれ、端部が開いた上方円筒形部分34、中間移行部分36、および閉じた下方円筒形部分42を含む図1に関して記載されたように、同様に構築されている。この実施形態による標識マーク82は、具体的には、各プラスチックカラム74と共に作られ、プラスチックカラム74内に成型されるが、これらのマークは、例えば、レーザーエッチング、印刷または他の同様の手段によって、別様に加えられてもよい。この実施形態による印は、一式の平行な水平線82であり、これらの水平線82は、既知の間隔を間に有し、各カラムの幅の一部にわたって延びる所定の長さを有している。この印は、代わりに、例えば、86として図示される同様の一式の離間した水平線によって示されるように、各カラムに直接隣接して設けられてもよい。様々な形状および長さを有する他の形態の印が、直線状に離間した「チェックマーク」に使用され得るが、台形、円形、肩のある形(shouldered)または他の形態もしくは形状を有するものなど他の印が使用されてよいことが容易に明らかとなるであろう。さらに、印のうち少なくともいくつかは、着色されて、視覚的な、または機械視覚による認識をさらに可能にすることができる。

【0019】

さらに、この実施形態によれば、線82、86はそれぞれ、カラム表面より上に隆起して、滑らかなカード表面とは異なるレリーフを作り、このレリーフは、例えば本明細書に記載した既知の長さおよび間隔の線を用いて、視覚的データとして、自動機械視覚装置(不図示)の照明システムにより、さらに容易に見つけられる。この印は、自動装置の画像処理アルゴリズムが、視野内でカードのカラムを突き止めるのを支援する。さらに、隆起したマークはまた、カードの滑らかな表面を中断し、装置の照明システムから放たれる光が反射する移行点をもたらす。この反射は、自動装置の画像処理ソフトウェアによるエッジとしてより容易に観察される。あるいは、線82および86は、周囲のカラム表面または基板の表面に関して奥まっているか、またはくぼんでいてよい。

【0020】

第2の実施形態に従って作られた試験カード100が図3に示されている。本検討の目的で、同様の部品は、同じ参照符号で標識されていることに注意すべきである。試験カード100は、複数のマイクロチューブ18を支持する平坦な基板14により画定される。前述のものと同様のマイクロチューブ18は、一般的に、上方円筒形部分34、内側にテーパー状になった移行部分36、および下方円筒形部分42を含み、下方円筒形部分42は、図1の免疫診断試験カードに設けられたものを示すが、標識マークの形態の印をさらに含む、一式の試験カラムを画定する。この実施形態によると、印は、1組の等間隔で平行な水平線102により表され、線はそれぞれ、隆起しており、カラムおよび平坦な基板14それぞれの外側表面に設けられている。この実施形態によると、線102は、レーザーエッチングにより形成されているが、他の適切な手段によって加えられてよい。標識線102はそれぞれ、互いに対して等間隔であり、試験カードの少なくとも1つのカラムを伴う凝集反応を説明または等級付けする目的で、あるいは、ゲル物質をカードに加え、そのためのデータまたは基準を提供するためにカードを製造する目的で、各線の間にも間隔または勾配ゾーンを画定している。さらに、本明細書に記載されるような標識マークの使用

10

20

30

40

50

は、マイクロチューブのいずれかの中身に関して蒸発作用があったかどうかについて、製造後、かつ使用前に、指標を与えることもできる。ホイラップがあるにもかかわらず、蒸発が依然として経時的に生じることができ、したがって標識マークがさらに別の機能を与えると判断されている。例示された試験カード100は、6(六)個のマイクロチューブ18を含み、それにより、合計で6個の試験カラムを画定する。

【0021】

図3の試験カード100を用いて生体内感作によりIgGおよび/または補体でコーティングされた血球を検知するための直接抗グロブリン試験(DAT)を行う目的で、明確にするために実施例を本明細書に記載する。Micro Typing Systems, Incにより製造されたID-MTSゲルカードを用いて試験を行う。この試験カードの目的で、またこの実施例によると、5mLのセファクリル200ゲル(Pharmacia)を食塩溶液中で2回洗浄する。ゲル粒子は、約10~200 μ mの直径を有する。遠心分離後(5分、1250 \times g)、上澄みを廃棄し、沈殿物が4.5mLまで等張イミダゾール緩衝液(isotonic imidazol buffer)(0.014モル/Lのイミダゾール、0.085%のNaCl)、pH7.6、で満たされる。多特異性の抗ヒトグロブリン(抗IgG、-C3d)が次に、前述の懸濁液に加えられ、患者の赤血球に結合したIgGおよび/または補体の検知に使用される。懸濁液はよく混ぜられ、この形態で使用される準備ができる。約35 μ Lの前述の溶液が次に、ゲルカードの試験チャンバそれぞれに入れられ、ゲルカードは、ポリエチレンから作られている(この実施例のマイクロチューブは、スイス・ジェノバのMilana SAにより販売されるET-29 MM)。不活性粒子は、数分以内に各マイクロチューブ18の底部に沈殿する。

【0022】

DAT試験手順に関して、前記のように抗IgG、-C3dを含むゲルマイクロチューブ18を使用して、50 μ Lの懸濁RBCが0.8%濃度でマイクロチューブの反応チャンバに加えられ、混合物は約70 \times gで10分間、遠心分離される。遠心分離中、反応チャンバ内のRBCは、ゲルカラム内に引き入れられる。感作RBCは、抗IgGの存在下でゲルカラムの上部および凝集物を通過するであろう。凝集RBCは、ゲルマトリックスを通り抜けるには大きすぎるため、これらの凝集物は、凝集物のサイズに応じて、ゲルカラムの長さに沿った様々な場所で捕捉されることになる。非凝集RBCは、ゲルカラムを容易にすり抜け、マイクロチューブの底部でペレット状になる。

【0023】

図示された試験カード100は、前記のような直接クームス試験を可能にし、かつ6(六)個のカラムを使用したサンプリングを制御する、カラムを含む。直接抗グロブリン試験(DAT)のみが本明細書に記載されている。さらに具体的には、図3に示された試験カードによると、試験カード100のカラムは、試験を受けており、結果として生じた凝集反応が、印を用いて等級付けされ得る。先に述べたように、水平に配された標識線102はそれぞれ互いから離間し、それにより、複数の等級付けゾーンまたは間隔ゾーンを形成する。このゾーンは、使用者による直接視によって、または参照により内容全体を本明細書に組み込む欧州特許第0637744B1号に記載されるもののような機械視覚を通じて、利用され得る。本検討の目的で、凝集物の位置、よって、各ゲルカラム内の反応は、それらの相対位置に基づいて容易に等級付けされ得る。名目上、反応は、以下のように判断され得る：まず、最上標識線より上に全凝集物が存在することにより、強い陽性反応および4+の等級の表示が与えられる。他方、形成凝集物がカラムのどこにもなく、マイクロチューブの底部でペレットが形成されることは、陰性反応(0)が生じたことを示す。前述したことのそれぞれは、通常、結び付けるのが実に容易である。標識線102のおかげで、判断がさらに確立され得る。さらに具体的には、ゲル層より上に凝集物が形成されたにもかかわらず、最上標識線105と中央標識線107との間のゾーンに形成凝集物が存在することは、より弱い陽性反応が起こったことを示す。同様に、マイクロチューブの底部でのペレット形成にもかかわらず、最下標識線109と中央標識線107との間のゾーンに凝集物が存在することは、非常に弱い陽性反応が起こったことを示す。

【 0 0 2 4 】

さらに具体的に、また図3の試験カードの例として、カードの左端側から、マイクロチューブ104で始めて、強い陽性反応が生じていることが明らかであり、形成凝集物128は、不活性物質46より上、ならびに最上標識線105より上に全体が形成されている。最上標識線より下にいかなる凝集物もないことは、強烈に陽性の4+反応等級を示す。隣接する第2のカラム108では、形成凝集物130の一部が最上標識線105より上に位置しているが、別の部分が、最上標識線105と中央標識線107との間に形成されたゾーンに見られる。前記のように、後者の凝集物存在は、前記の第1のカラムの反応よりさらに弱々しい陽性である反応が生じたことを示す。その結果、この反応は、3+の等級を有する。隣接する第3のカラム112では、形成凝集物132は、3つの標識線105、107、109により画定されたゾーンそれぞれにわたって広げられるか、または分散されている。この一般的な分散は、第2のカラム108で示されたものより弱い反応が存在することを示し、2+反応を定める。第4のカラム116では、形成凝集物136は、もっぱら、最下標識線109と中央標識線107との間に画定されたゾーンに見られる。中央標識線107より上には凝集物は見られない。このゾーンに凝集物136が存在することは、1+反応を示す。最後に、第5のカラム120および第6のカラム124では、形成された形成凝集物はなく、細胞ペレット138が、最下標識線109より下で各カラムの底部に沈殿し、それにより、陰性すなわち(0)反応がそれぞれの場合に生じたことを示している。

10

【 0 0 2 5 】

使用される印は、図2および図3にしたがって描かれるように、線であるか、隆起しているか、または別様である。しかしながら、先に示したように、他の形態または種類の印を使用できることは容易に明らかとなるであろう。その印は、円形、台形、いかり肩の線などを含むがこれらに限定されない。さらに、この印は、透明であってよく、または代わりに、凝集物と試験マトリックスとの間を協調するため着色されていてもよく、また、周辺表面より上もしくは下に形成され得る。

20

【 0 0 2 6 】

図2および図3に示すような印は、免疫診断試験カードの製造に関して使用されることもできる。それぞれの透明なマイクロチューブに関して印を置くことにより、各試験チャンバの範囲(confines)に加えられている不活性ゲル、ビーズ、または同様の物質の量、ならびに他の製造プロセス、例えば、製品ラベル15の適切な設置、もしくはラベルのコード化セクション16の設置、に関して、判断を行うことができる。

30

【 0 0 2 7 】

特定の実施形態および関連する方法に関して概念を説明したが、特許請求の範囲に列挙されるような発明の範囲を具現化する変形および改変が存在することは当業者には容易に明らかとなる。前記のように、本明細書に記載された試験および試験要素は、文字通りあらゆる形態の血液貯蔵(blood banking)として単なる例示的なものであり、または他の血清学上の試験およびサンプル試験が、同様に実施され、凝集反応を形成できる任意の試験要素を用いて、本明細書に記載された概念を具現化することができる。さらに、前記に定められた線も例示的なものであり、間隔および構成は、例えば、試験形態、および使用される試験チャンバのデザインに応じて、適切に変えられてよい。

40

【 0 0 2 8 】

〔実施の態様〕

(1) 免疫診断試験カードを製造する方法において、

平坦な基板を形成する工程であって、前記基板は、少なくとも1つの透明なチャンバを支持する、工程と、

前記少なくとも1つの透明なチャンバ上に印を設ける工程と、

ある容量の試験物質を、前記少なくとも1つの透明なチャンバの内部に加える工程と、
を含み、

前記印は、十分な量の試験物質がいつ前記少なくとも1つのチャンバに加えられたかを

50

定める、方法。

- (2) 実施態様1に記載の方法において、
前記少なくとも1つの透明なチャンバは、成型可能なプラスチック材料から作られ、
前記方法は、前記印を、前記少なくとも1つの透明なチャンバに直接成型する工程を含む、方法。
- (3) 実施態様1に記載の方法において、
前記印は、前記少なくとも1つの透明なチャンバ上に直接設けられる、方法。
- (4) 実施態様1に記載の方法において、
前記印は、直線状に離間した複数の線を含み、前記線はそれぞれ、前記少なくとも1つの透明なチャンバで生じた凝集反応を客観的に等級付けするためのゾーンをさらに画定する、方法。 10
- (5) 実施態様1に記載の方法において、
前記印は、前記少なくとも1つの透明なチャンバに隣接して設けられる、方法。
- (6) 実施態様1に記載の方法において、
前記試験カード上に前記印を印刷する工程および前記試験カード上に前記印をエッチングする工程のうち一方を含む、方法。
- (7) 実施態様1に記載の方法において、
前記印は、少なくとも1つの、隆起するかまたはくぼんだ表面により画定される、方法。
- (8) 実施態様7に記載の方法において、 20
前記少なくとも1つの、隆起するかまたはくぼんだ表面を検知するために機械視覚システムを使用する工程と、
前記加える工程を前記検知する工程と調和させる工程と、
を含む、方法。
- (9) 実施態様1に記載の方法において、
所定の場所に印を適用する工程と、
前記印に基づいて製品ラベルを位置付ける工程と、
を含む、方法。
- (10) 実施態様1に記載の方法において、 30
前記少なくとも1つのチャンバ内の試験物質の高さを前記印と比較して、蒸発作用が前記試験カードの使用前に存在したかどうかを判断する工程、
をさらに含む、方法。
- 【0029】
- (11) 免疫診断試験カードにおける凝集反応を等級付けする方法であって、前記試験カードは、少なくとも1つの透明なカラムを含み、前記少なくとも1つのカラムは、患者サンプルと混合されると凝集反応を生じさせることができるある量の試験物質を最初に収容する、方法において、
試験カードの前記少なくとも1つの透明なカラムに対して印を設ける工程と、
前記少なくとも1つの透明なカラムに患者サンプルを加える工程と、
前記少なくとも1つの透明なカラムの中身と前記患者サンプルを混合する工程と、 40
前記印と比べて凝集物に視覚的に注意することにより、前記反応を等級付けする工程と、
を含む、方法。
- (12) 実施態様11に記載の方法において、
前記等級付けする工程は、視覚的に行なわれる、方法。
- (13) 実施態様11に記載の方法において、
前記等級付けする工程は、機械視覚を用いて行なわれる、方法。
- (14) 実施態様11に記載の方法において、
前記印は、一式の離間した平行な線を含み、前記線それぞれの間の間隔が、前記凝集反応の等級を定める、方法。 50

- (15) 実施態様13に記載の方法において、
前記少なくとも1つの透明なカラムは、成型可能なプラスチック材料から作られ、
前記方法は、
前記印を、前記少なくとも1つの透明なカラムへと直接成型する工程、
を含む、方法。
- (16) 実施態様15に記載の方法において、
前記印は、少なくとも1つの、隆起するかまたはくぼんだ表面を含み、
前記方法は、
機械視覚によって、前記少なくとも1つの、隆起するかまたはくぼんだ表面を検知する
工程、
を含む、方法。
- (17) 実施態様16に記載の方法において、
間に間隔を有する一式の離間した平行な線により画定された、複数の、隆起するかまたは
くぼんだ表面を含み、前記線は、等級付けゾーンを画定するために前記少なくとも1つ
の透明カラムに関連して前記少なくとも1つの透明なカラムの上に配される、方法。
- (18) 実施態様11に記載の方法において、
前記少なくとも1つの透明なカラムに隣接して印を設ける工程、
を含む、方法。
- (19) 実施態様11に記載の方法において、
前記印を前記カード上にエッチングする工程および前記印を前記カード上に印刷する工
程のうち少なくとも一方を含む、方法。

10

20

【図面の簡単な説明】

【0030】

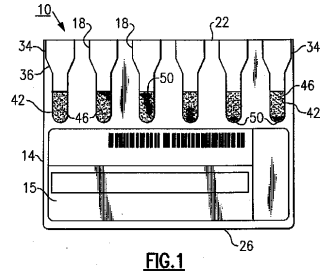
【図1】試験後の先行技術の免疫診断試験カードを示したもので、このカードは、いくつ
かの試験チャンバまたはカラムを含み、カラムはそれぞれ、患者サンプルに関する凝集反
応を表示する。

【図2】第1の実施形態に従って作られた試験要素デザインのカラムとは対照的に、図1
の先行技術の試験カードの一部を絵で表したものである。

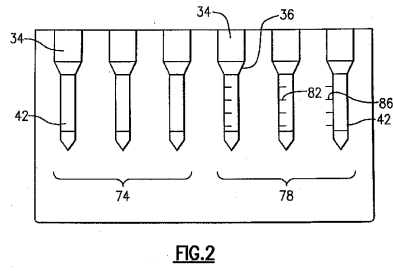
【図3】試験後の、第2の実施形態に従って作られた免疫診断試験要素を示すものであり
、試験要素のカラム内で形成された凝集反応は、試験要素上に設けられた印により等級付
けされ得る。

30

【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】

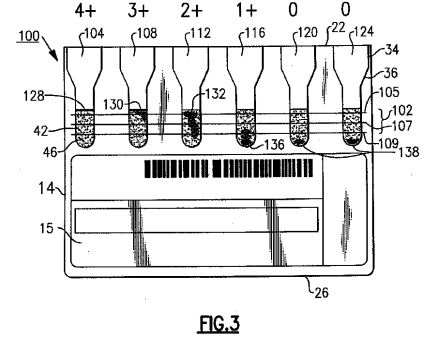


FIG. 3

フロントページの続き

- (72)発明者 チャペリ・ジョセフ・エム
アメリカ合衆国、14612 ニューヨーク州、ロチェスター、ウィンサップ・ポイント 150
- (72)発明者 ゴリザーノ・メアリー・ケイ
アメリカ合衆国、14612 ニューヨーク州、ロチェスター、ロング・パーク・ドライブ 188

審査官 吉田 将志

- (56)参考文献 特公平08-007215(JP,B2)
特開平06-347458(JP,A)
特開平02-265569(JP,A)
国際公開第97/037219(WO,A1)
特表2005-524846(JP,A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G01N 33/48-98

专利名称(译)	免疫诊断测试卡与标记显示		
公开(公告)号	JP5452504B2	公开(公告)日	2014-03-26
申请号	JP2010545055	申请日	2009-01-15
[标]申请(专利权)人(译)	奥索临床诊断有限公司		
申请(专利权)人(译)	奥索 - 临床诊断公司		
当前申请(专利权)人(译)	奥索 - 临床诊断公司		
[标]发明人	チャペリジョセフエム ゴリザーノメアリーケイ		
发明人	チャペリ・ジョセフ・エム ゴリザーノ・メアリー・ケイ		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/53		
CPC分类号	B01L3/5025 B01L2200/143 B01L2300/028 B01L2400/0409 G01N33/5304 Y10S436/809 Y10T436/25		
FI分类号	G01N33/543.581.Z G01N33/53.T G01N33/53.K		
审查员(译)	吉田正志		
优先权	12/022349 2008-01-30 US		
其他公开文献	JP2011512524A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

免疫诊断测试卡包括多个透明室，其中每个室包括一定量的测试材料，当混合时，所述测试材料与患者样品组合以产生凝集反应。设置多个标记以有助于在测试之前制造和确定卡的可用性，并且还客观地分级形成或没有凝集的凝集反应。

【 图 3 】

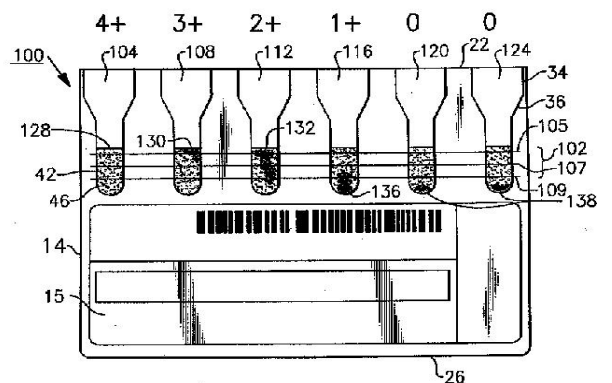


FIG.3