



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105388305 A

(43) 申请公布日 2016. 03. 09

(21) 申请号 201510530396. 5

(22) 申请日 2015. 08. 26

(30) 优先权数据

2014-173341 2014. 08. 27 JP

(71) 申请人 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 立山翔太 金子哲也

(74) 专利代理机构 北京市安伦律师事务所
11339

代理人 刘良勇 杨永波

(51) Int. Cl.

G01N 35/00(2006. 01)

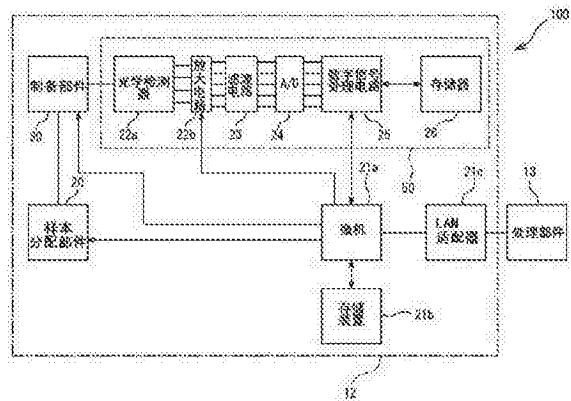
权利要求书3页 说明书17页 附图29页

(54) 发明名称

样本分析装置及样本分析方法

(57) 摘要

本发明提供一种能够分析样本的样本分析装置,包括:制备部件(30),将样本、含表面活性剂的稀释液和染色核酸的试剂混合,制备有核细胞的核酸被染色且红细胞溶血的测定试样;检测部件(50),用光照射测定试样中所含有的粒子,接受粒子发出的散射光及荧光,输出检测信号;处理部件(13),根据检测信号对样本中的白细胞和真菌进行计数。本发明还提供一种样本分析方法。



1. 一种能够分析样本的样本分析装置,包括:

制备部件,将样本、含表面活性剂的稀释液和染色核酸的试剂混合,制备有核细胞的核酸被染色且红细胞溶血的测定试样;

检测部件,用光照射所述测定试样中所含有的粒子,接受所述粒子发出的散射光及荧光,输出检测信号;

处理部件,根据所述检测信号对所述样本中的白细胞和真菌进行计数。

2. 根据权利要求 1 所述的样本分析装置,其特征在于:

所述处理部件根据所述检测信号计数所述样本中比白细胞更大的有核细胞。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的样本分析装置,其特征在于:

所述处理部件根据所述检测信号将所述样本中的白细胞和比白细胞大的有核细胞至少与所述样本中的真菌或细菌区分开,并求出白细胞和比白细胞大的有核细胞的总数。

4. 根据权利要求 1 所述的样本分析装置,其特征在于:

所述检测信号包括接受所述粒子发出的荧光而输出的荧光信号;

所述处理部件用从所述荧光信号获得的、反映核酸量的第一特征参数计数白细胞,用从所述荧光信号获得的、不同于所述第一特征参数且反映核酸量的第二特征参数计数真菌。

5. 根据权利要求 4 所述的样本分析装置,其特征在于:

所述第一特征参数是所述荧光信号的荧光脉冲面积;

所述第二特征参数是所述荧光信号的荧光强度。

6. 根据权利要求 4 所述的样本分析装置,其特征在于:

所述检测部件能够以第一检测灵敏度和高于所述第一检测灵敏度的第二检测灵敏度输出所述检测信号;

所述处理部件从以所述第一检测灵敏度输出的所述检测信号获取所述第一特征参数,从以所述第二检测灵敏度输出的所述检测信号获取所述第二特征参数。

7. 根据权利要求 1 所述的样本分析装置,其特征在于:

所述处理部件根据所述检测信号将所述白细胞分类为单核白细胞和多形核白细胞。

8. 根据权利要求 1 所述的样本分析装置,其特征在于:

所述处理部件根据所述检测信号计数所述样本中的细菌。

9. 根据权利要求 8 所述的样本分析装置,其特征在于:

所述检测部件能够以第一检测灵敏度、高于所述第一检测灵敏度的第二检测灵敏度和高于所述第二检测灵敏度的第三检测灵敏度检测出荧光并输出所述检测信号;

所述处理部件用以所述第一检测灵敏度输出的所述检测信号的特征参数计数白细胞,用以所述第二检测灵敏度输出的所述检测信号的特征参数计数真菌,用以所述第三检测灵敏度输出的所述检测信号的特征参数计数细菌。

10. 根据权利要求 1 所述的样本分析装置,其特征在于:

所述制备部件用所述样本的一部分制备红细胞溶血的所述测定试样,将所述样本的另一部分与一定试剂混合,制备未溶血的测定试样;

所述检测部件用光照射未溶血的所述测定试样中所含有的粒子,接受所述粒子发出的散射光和荧光,输出检测信号;

所述处理部件根据未溶血的所述测定试样的所述检测信号计数所述样本中的红细胞。

11. 根据权利要求 10 所述的样本分析装置,其特征在於:

所述处理部件根据未溶血的所述测定试样的所述检测信号计数所述样本中的结晶。

12. 根据权利要求 1 所述的样本分析装置,其特征在於:

所述样本分析装置能够以分析尿的尿分析模式和分析血液及尿以外的体液的体液分析模式进行作业;

所述处理部件在所述体液分析模式下就与所述尿分析模式不同的计数项目对测定试样中的粒子进行分类并计数。

13. 根据权利要求 1~12 其中任意一项所述的样本分析装置,其特征在於:

所述样本是不包括血液和尿的体液样本;

所述处理部件根据所述体液样本所含有的粒子的计数结果,进行有关脑膜炎、关节炎或体腔膜的炎症的判断。

14. 根据权利要求 13 所述的样本分析装置,其特征在於:

所述处理部件从数个种类中接受对所述体液样本的种类的指定,按照针对所述体液样本的种类分别设定的判断条件,进行有关炎症的判断。

15. 一种样本分析方法,包括:

将样本、含表面活性剂的稀释液和染色核酸的试剂混合,制备有核细胞的核酸被染色且红细胞溶血的测定试样;

用光照射所述测定试样中所含有的粒子,接受所述粒子发出的散射光及荧光,输出检测信号;

根据所述检测信号对所述样本中的白细胞和真菌进行计数。

16. 一种样本分析装置,该样本分析装置能够以分析尿样本的尿分析模式和能够分析除了血液及尿以外的体液样本的体液分析模式进行作业,包括:

制备部件,混合体液样本和试剂制备测定试样;

检测部件,用光照射所述测定试样中所含有的粒子,接受所述粒子发出的光,输出检测信号;

处理部件,根据所述检测部件输出的检测信号将所述体液样本中的白细胞分类成单核白细胞和多形核白细胞,并至少对所述体液样本中的细菌和真菌其中一种进行计数。

17. 一种能够分析血液和尿以外的体液样本的样本分析装置,包括:

制备部件,混合体液样本和试剂制备测定试样;

检测部件,检测所述测定试样中所含有的粒子并输出信号;

处理部件,根据所述检测部件输出的信号对所述体液样本中含有的数种粒子进行分析,根据显示异常值的粒子的种类的组合,判断所怀疑的炎症。

18. 一种能够分析血液和尿以外的体液样本的样本分析装置,包括:

制备部件,混合体液样本和试剂制备测定试样;

检测部件,检测出所述测定试样中所含有的粒子并输出信号;

处理部件,进行以下处理:

根据所述检测部件输出的信号对所述体液样本中含有的粒子进行分析的分析处理;以

及

接受所述体液样本种类的指示,用按照所述体液样本种类分别设定的判断条件,判断根据所述分析处理的结果所怀疑的炎症的处理。

19. 一种能够分析血液和尿以外的体液样本的样本分析装置,包括:

制备部件,从所述体液样本制备未溶血的第一测定试样和红细胞溶血且有核细胞的核酸被染色的第二测定试样;

检测部件,检测出所述第一测定试样和所述第二测定试样中分别所含有的粒子并输出信号;

处理部件,根据所述检测部件输出的信号对所述第一测定试样中所含有的红细胞和所述第二测定试样中所含有的白细胞进行计数,当所述红细胞数在一定数量以上时,根据所述红细胞数校正所述白细胞数。

20. 一种能够分析样本的样本分析装置,包括:

制备部件,混合样本和染色核酸的试剂制备测定试样;

检测部件,光照所述测定试样中所含有的粒子,接受所述粒子发出的光,输出检测信号;

处理部件,从所述检测部件输出的检测信号获取数个特征参数,根据反映粒子大小及核酸量的数个特征参数的第一组合,至少将所述样本中的白细胞与大型有核细胞和真菌区分出来,根据与所述第一组合不同的数个特征参数的第二组合,至少将所述样本中的白细胞分类为单核白细胞和多形核白细胞。

样本分析装置及样本分析方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种样本分析装置及样本分析方法。

背景技术

[0002] 专利文献 1 公开了一种用自动血液分析器计数体液中的白细胞、成红血细胞(erythroblast)和细菌的方法。

[0003] 专利文献

专利文献 1:日本专利公报特表 2011-529186 号。

发明内容

[0004] 发明要解决的技术问题

根据专利文献 1 的技术,只能计数体液中的白细胞、成红血细胞和细菌而已。要进行适当的诊断和治疗,还需要通过体液分析获得更有用的信息。

[0005] 解决技术问题所采取的技术

本发明一种形态涉及一种能够分析样本的样本分析装置,其具有:制备部件,将样本、含表面活性剂的稀释液和染色核酸的试剂混合,制备有核细胞的核酸被染色且红细胞溶血的测定试样;检测部件,用光照射所述测定试样中所含有的粒子,接受所述粒子发出的散射光及荧光,输出检测信号;处理部件,根据所述检测信号对所述样本中的白细胞和真菌进行计数。

[0006] 优选地,所述处理部件根据所述检测信号计数所述样本中比白细胞更大的有核细胞。

[0007] 优选地,所述处理部件根据所述检测信号将所述样本中的白细胞和比白细胞大的有核细胞至少与所述样本中的真菌或细菌区分开,并求出白细胞和比白细胞大的有核细胞的总数。

[0008] 优选地,所述检测信号包括接受所述粒子发出的荧光而输出的荧光信号;所述处理部件用从所述荧光信号获得的、反映核酸量的第一特征参数计数白细胞,用从所述荧光信号获得的、不同于所述第一特征参数且反映核酸量的第二特征参数计数真菌。

[0009] 优选地,所述第一特征参数是所述荧光信号的荧光脉冲面积;所述第二特征参数是所述荧光信号的荧光强度。

[0010] 优选地,所述检测部件能够以第一检测灵敏度和高于所述第一检测灵敏度的第二检测灵敏度输出所述检测信号;所述处理部件从以所述第一检测灵敏度输出的所述检测信号获取所述第一特征参数,从以所述第二检测灵敏度输出的所述检测信号获取所述第二特征参数。

[0011] 优选地,所述处理部件根据所述检测信号将所述白细胞分类为单核白细胞和多形核白细胞。

[0012] 优选地所述处理部件根据所述检测信号计数所述样本中的细菌。

[0013] 优选地,所述检测部件能够以第一检测灵敏度、高于所述第一检测灵敏度的第二检测灵敏度和高于所述第二检测灵敏度的第三检测灵敏度检测出荧光并输出所述检测信号;所述处理部件用以所述第一检测灵敏度输出的所述检测信号的特征参数计数白细胞,用以所述第二检测灵敏度输出的所述检测信号的特征参数计数真菌,用以所述第三检测灵敏度输出的所述检测信号的特征参数计数细菌。

[0014] 优选地,所述制备部件用所述样本的一部分制备红细胞溶血的所述测定试样,将所述样本的另一部分与一定试剂混合,制备未溶血的测定试样;所述检测部件用光照射未溶血的所述测定试样中所含有的粒子,接受所述粒子发出的散射光和荧光,输出检测信号;所述处理部件根据未溶血的所述测定试样的所述检测信号计数所述样本中的红细胞。

[0015] 优选地,所述处理部件根据未溶血的所述测定试样的所述检测信号计数所述样本中的结晶。

[0016] 优选地,所述样本分析装置能够以分析尿的尿分析模式和分析血液及尿以外的体液的体液分析模式进行作业;所述处理部件在所述体液分析模式下就与所述尿分析模式不同的计数项目对测定试样中的粒子进行分类并计数。

[0017] 优选地,所述样本是不包括血液和尿的体液样本;所述处理部件根据所述体液样本所含有的粒子的计数结果,进行有关脑膜炎、关节炎或体腔膜的炎症的判断。

[0018] 优选地,所述处理部件从数个种类中接受对所述体液样本的种类的指定,按照针对所述体液样本的种类分别设定的判断条件,进行有关炎症的判断。

[0019] 本发明另一形态涉及一种样本分析方法,其中:将样本、含表面活性剂的稀释液和染色核酸的试剂混合,制备有核细胞的核酸被染色且红细胞溶血的测定试样,用光照射所述测定试样中所含有的粒子,接受所述粒子发出的散射光及荧光,输出检测信号,根据所述检测信号对所述样本中的白细胞和真菌进行计数。

[0020] 本发明另一形态还涉及一种样本分析装置,该样本分析装置能够以分析尿样本的尿分析模式和能够分析血液及尿以外的体液样本的体液分析模式进行作业,其具有:制备部件,混合体液样本和试剂制备测定试样;检测部件,用光照射所述测定试样中所含有的粒子,接受所述粒子发出的光,输出检测信号;处理部件,根据所述检测部件输出的检测信号将所述体液样本中的白细胞分类成单核白细胞和多形核白细胞,并至少对所述体液样本中的细菌和真菌其中一种进行计数。

[0021] 本发明另一形态还涉及一种能够分析血液和尿以外的体液样本的样本分析装置,其具有:制备部件,混合体液样本和试剂制备测定试样;检测部件,检测所述测定试样中所含有的粒子并输出信号;处理部件,根据所述检测部件输出的信号对所述体液样本中含有的数种粒子进行分析,根据显示异常值的粒子种类的组合,判断所怀疑的炎症。

[0022] 本发明另一形态还涉及一种能够分析血液和尿以外的体液样本的样本分析装置,其具有:制备部件,混合体液样本和试剂制备测定试样;检测部件,检测出所述测定试样中所含有的粒子并输出信号;处理部件,进行以下处理:根据所述检测部件输出的信号对所述体液样本中含有的粒子进行分析的分析处理;以及接受所述体液样本种类的指示,用针对所述体液样本种类分别设定的判断条件,判断根据所述分析处理结果所怀疑的炎症的处理。

[0023] 本发明另一形态涉及一种能够分析血液和尿以外的体液样本的样本分析装置,其

具有：制备部件，从所述体液样本制备未溶血的第一测定试样和红细胞溶血且有核细胞的核酸被染色的第二测定试样；检测部件，检测出所述第一测定试样和所述第二测定试样中分别所含有的粒子并输出信号；处理部件，根据所述检测部件输出的信号对所述第一测定试样中所含有的红细胞和所述第二测定试样中所含有的白细胞进行计数，当所述红细胞数在一定数量以上时，根据所述红细胞数校正所述白细胞数。

[0024] 本发明另一形态涉及一种能够分析样本的样本分析装置，其具有：制备部件，混合样本和染色核酸的试剂制备测定试样；检测部件，光照所述测定试样中所含有的粒子，接受所述粒子发出的光，输出检测信号；处理部件，从所述检测部件输出的检测信号获取数个特征参数，根据反映粒子大小及核酸量的数个特征参数的第一组合，至少将所述样本中的白细胞与大型有核细胞和真菌区分出来，根据与所述第一组合不同的数个特征参数的第二组合，至少将所述样本中的白细胞分类为单核白细胞和多形核白细胞。

[0025] 发明效果

根据本发明，通过体液分析能够获得对作出恰当诊断和治疗有用的信息。

附图说明

[0026] 图 1 为样本分析装置的结构图；

图 2 为制备部件和光学检测器的结构图；

图 3 为光学检测器的结构图；

图 4A 为光学信号的强度说明图；

图 4B 为光学信号的脉冲宽度说明图；

图 4C 为光学信号的脉冲面积说明图；

图 5 为处理部件的结构框图；

图 6 为体液分析模式下的样本测定处理的流程图；

图 7 为输入体液样本种类的信息输入界面；

图 8 为体液测定试样制备处理的流程图；

图 9A 为鞘流的示意图；

图 9B 为鞘流的示意图；

图 10 为测定数据分析处理的流程图；

图 11 为荧光强度—前向散射光强度区域的红细胞和结晶的分布图；

图 12A 为荧光脉冲面积—前向散射光脉冲宽度区域中的白细胞、异型细胞和上皮细胞的分布图；

图 12B 为白细胞检测结果的一例示散点图；

图 13 为侧向散射光强度—前向散射光强度区域中单核白细胞和多形核白细胞的分布图；

图 14A 为单核白细胞和多形核白细胞的检测结果的散点图；

图 14B 为单核白细胞和多形核白细胞的检测结果的散点图；

图 14C 为单核白细胞和多形核白细胞的检测结果的散点图；

图 15A 为荧光强度—前向散射光强度区域中的真菌的分布图；

图 15B 为真菌的检测结果一例示散点图；

- 图 16 为荧光强度—前向散射光强度区域中的细菌的分布图；
图 17 为各粒子 DNA 量与粒径的关系的说明图；
图 18A 为从大型有形成分获得的荧光信号的脉冲面积的说明图；
图 18B 为从小型有形成分获得的荧光信号的脉冲面积的说明图；
图 19 为分类计数结果的分析 and 显示处理的流程图；
图 20 为包括疑似信息在内的判断结果显示界面；
图 21 为包含红细胞校正信息在内的判断结果界面；
图 22 为用于计数红细胞和结晶的散点图。

具体实施方式

[0027] 下面参照附图说明本发明的优选实施方式。

[0028] (1. 样本分析装置的结构)

图 1 所示的样本分析装置 100 分析样本 11 中所含有的有形成分。样本分析装置 100 主要结构包括：制备部件 30、检测部件 50 和处理部件 13。制备部件 30 混合样本 11 和试剂制备测定试样。检测部件 50 从测定试样检测出有形成分的信息。处理部件 13 根据检测部件 50 的检测结果进行处理。

[0029] 样本分析装置 100 能够以尿分析模式和体液分析模式其中之一进行作业。当设定为尿分析模式时，样本分析装置 100 将尿样本取入内部分析尿中的有形成分。所谓尿中的有形成分指红细胞、白细胞、上皮细胞、管型、细菌、真菌(未出芽)、精子和毛滴虫等。

[0030] 当设定为体液分析模式时，样本分析装置 100 将体液样本取入内部，分析体液中的有形成分。所谓体液中的有形成分指红细胞、结晶、白细胞、大型细胞(Large Cell)、真菌、细菌等。所谓大型细胞是比白细胞大的有核细胞。大型细胞从体腔内膜或内脏的腹膜剥落等而存在于体液中。大型细胞比如包括上皮细胞、巨噬细胞(macrophage)、肿瘤细胞等。

[0031] 所谓体液指采自生物体、含有细胞的液体。体液包括髓液、脑脊髓液(cerebrospinal fluid (CSF))、体腔液(胸水、腹水、心包液)、关节液(滑液、存在于滑囊、腱鞘中的液体)、眼房液、房水等。体液中还包含腹膜透析(CAPD)的透析液和腹腔内清洗液等。一般定义上的体液中包含血液和尿，但在本实施方式的说明中，为区别作为体液分析模式的对象的脑脊髓液(CSF)和关节液等体液与尿和血液，当称为“体液”或“体液样本”时，表示不包括血液和尿。在权利要求中，只要没有特别注明，“体液”包含血液和尿。所谓“样本”包含血液、尿和体液。

[0032] 样本分析装置 100 的测定部件 12 具有样本分配部件 20、制备部件 30、检测部件 50、微机 21a、存储装置 21b 和 LAN 适配器 21c。测定部件 12 通过 LAN 适配器 21c 连接处理部件 13。

[0033] 检测部件 50 具有光学检测器 22a、放大电路 22b、滤波电路 23、A/D 转换器 24、数字信号处理电路 25 和存储器 26。

[0034] 如图 2 所示，制备部件 30 与样本分配部件 20 连接。制备部件 30 将试剂混入样本分配部件 20 分装的样本中，制备测定试样。样本分配部件 20 具有吸管 19 和注射泵。样本分配部件 20 通过吸管 19 吸移试管 10 中的样本 11，并将其分装到制备部件 30。制备部件 30 具有第一反应槽 30u 和第二反应槽 30b。样本分配部件 20 分别向反应槽 30u 和反应槽

30b 分配定量的等分物。

[0035] 在反应槽 30u, 分配的等分物与充当稀释液的第一试剂 31u 和含有染料的第三试剂 32u 混合。通过第三试剂 32u 所含有的色素对样本中的有形成分染色。在尿分析模式, 在反应槽 30u 制备的试样作为分析红细胞、白细胞、上皮细胞和管型等较大的尿中有形成分的第一测定试样使用。在体液分析模式中, 在反应槽 30u 制备的试样作为分析体液中的红细胞和结晶的第三测定试样使用。以下将红细胞、管型和结晶等粒子基本结构无核酸的粒子称为无核成分。

[0036] 在反应槽 30b, 所分配的等分物与作为稀释液的第二试剂 31b 和含染料的第四试剂 32b 混合。第二试剂 31b 有溶血作用。通过第四试剂 32b 中所含有的色素对样本中的有形成分进行染色。在尿分析模式下, 在反应槽 30b 制备的试样是分析尿中细菌等的第二测定试样。在体液分析模式下, 在反应槽 30b 制备的试样作为分析体液中白细胞、大型细胞、真菌和细菌的第四测定试样。以下将白细胞、大型细胞、真菌和细菌等粒子基本结构有核酸的粒子称为有核成分。

[0037] 从反应槽 30u 向检测部件 50 所具有的光学检测器 22a 的流动室 51 有管延伸, 在反应槽 30u 制备的测定试样能够供应到流动室 51。反应槽 30u 的出口设有电磁阀 33u。从反应槽 30b 也有管延伸, 此管连接着从反应槽 30u 延伸的管。在反应槽 30b 制备的测定试样能够供应到流动室 51。反应槽 30u 的出口设有电磁阀 33b。

[0038] 从反应槽 30u、30b 延伸到流动室 51 的管在流动室 51 前分叉。管分叉端连接注射泵 34a。注射泵 34a 与分叉点之间设有电磁阀 33c。

[0039] 在从反应槽 30u、30b 分别伸出的管的接点到所述分叉点, 管进一步分叉。管的分叉端连接注射泵 34b。向注射泵 34b 延伸的管的分叉点与上述接点之间设有电磁阀 33d。

[0040] 制备部件 30 设有装鞘液的鞘液收纳部件 35。鞘液收纳部件 35 由管连接在流动室 51。鞘液收纳部件 35 上连接有压缩机 35a。驱动压缩机 35a, 则压缩空气供应到鞘液收纳部件 35, 鞘液从鞘液收纳部件 35 供应到流动室 51。

[0041] 从反应槽 30u 向流动室 51 输送测定试样的作业如下进行。微机 21a 打开电磁阀 33u、33d、33c。在此状态下, 微机 21a 驱动注射泵 34a, 向电磁阀 33d 和电磁阀 33c 之间的流路填充反应槽 30u 的测定试样。微机 21a 关闭电磁阀 33d、33c, 驱动注射泵 34b, 将填充到流路的测定试样推出到流动室 51 一侧。以此, 鞘液包被的测定试样流在流动室 51 内形成。从反应槽 30b 输送测定试样时, 关闭电磁阀 33u, 打开电磁阀 33b, 将反应槽 30b 内的测定试样填充到流路。此后的处理都一样。微机 21a 控制注射泵 34b 的推出速度, 这样能够调节单位时间流经流动室 51 的测定试样量。

[0042] 如图 3 所示, 光学检测器 22a 有聚光透镜 52 和集光透镜 54、56。半导体激光光源 53 放射与流经流动室的试样流平行的直线偏振光。聚光透镜 52 将半导体激光光源 53 放射的激光聚光于流动室 51。集光透镜 54 将测定试样中有形成分——即粒子发出的前向散射光聚光于前向散射光受光部件 55。前向散射光受光部件 55 检测出前向散射光。其他集光透镜 56 将测定试样中的有形成分发出的侧向散射光和荧光聚光于分色镜 57a。分色镜 57a 将侧向散射光反射到半透射镜 (semitransparent mirror) 57b 一侧, 允许荧光向荧光受光部件 59 方向透过。荧光受光部件 59 检测出荧光。

[0043] 半透射镜 (semitransparent mirror) 57b 为无偏振型。侧向散射光被半透射镜

(semitransparent mirror)57b 一分为二。透过半透射镜 (semitransparent mirror)57b 的侧向散射光被侧向散射光受光部件 58a 检测出来。被半透射镜 (semitransparent mirror)57b 反射的侧向散射光入射到偏振滤光器 (Polarizing Filter) 57c。

[0044] 偏振滤光器 (Polarizing Filter) 57c 截断与流经流动室 51 的测定试样的流向平行的偏振光 (与半导体激光光源 53 放射的光相同偏振状态的光), 容许垂直方向的偏振光通过。通过偏振滤光器 (Polarizing Filter) 57c 的侧向散射光以下称为“消偏侧向散射光”。消偏侧向散射光受光部件 58b 检测出消偏侧向散射光。

[0045] 前向散射光受光部件 55、侧向散射光受光部件 58a、消偏侧向散射光受光部件 58b 及荧光受光部件 59 将接受的光信号转换成作为检测信号的电信号, 分别输出前向散射光信号 (FSC)、侧向散射光信号 (SSC)、消偏侧向散射光信号 (PSSC) 和荧光信号 (FL)。

[0046] 这些输出均在经无图示的前置放大器放大后供下一阶段处理用。前向散射光受光部件 55、侧向散射光受光部件 58a、消偏侧向散射光受光部件 58b 和荧光受光部件 59 能够分别通过切换驱动电压来切换低灵敏度输出和高灵敏度输出。此灵敏度的切换由后述微机 21a 进行。

[0047] 在本实施方式中, 前向散射光受光部件 55 使用光电二极管, 侧向散射光受光部件 58a、消偏侧向散射光受光部件 58b 和荧光受光部件 59 使用光电倍增管。前向散射光受光部件 55 也可以使用光电倍增管, 侧向散射光受光部件 58a、消偏侧向散射光受光部件 58b 和荧光受光部件 59 也可以使用光电二极管。荧光受光部件 59 输出的荧光信号 (FL) 由无图示的前置放大器放大后, 输送到分叉的两个信号频道。

[0048] 与荧光信号 (FL) 有关的两个信号频道分别连接后述放大电路 22b (参照图 1)。输入其中一个信号频道的荧光信号被放大电路 22b 高灵敏度地放大。将输入此频道的荧光信号称为第一荧光信号 (FLH)。输入另一信号频道的荧光信号被放大电路 22b 低灵敏度地放大。将输入此频道的荧光信号称为第二荧光信号 (FLL)。

[0049] 返回图 1, 放大电路 22b 放大光学检测器 22a 输出的 FSC、SSC、PSSC、FLH、FLL 五种信号。

[0050] 滤波电路 23 对放大电路 22b 放大的信号进行滤波处理。A/D 转换器 24 将滤波电路处理的信号转换为数字信号。数字信号处理电路 25 从各光学信号中提取分析用参数。提取的特征参数作为测定数据存入存储器 26。

[0051] 下面参照图 4A 就数字信号处理电路 25 提取的分析用参数进行说明。

[0052] 作为分析用参数, 就各光学信号 FSC、SSC、PSSC、FLH、FLL 有“强度”、“脉冲宽度”和“脉冲面积”三种。强度用 P 表示。脉冲宽度用 W 表示。脉冲面积用 A 表示。如上所述, 粒子每次通过流动室 51, 各受光部件输出的电信号就会与粒子的特性相应地以脉冲形状变化。

[0053] 光学信号强度获取的是如图 4A 所示脉冲波峰高度 PP。光学信号脉冲宽度如图 4B 所示, 获取的是从脉冲超过一定阈值时的时间 T1 到低于阈值的时间 T2 为止的间隔 PW。光学信号脉冲面积如图 4C 所示, 获取的是用信号脉冲波形线 L1、表示光学信号强度在脉冲两侧取一定阈值时的时间的直线 L2、L3 和表示光学信号强度值为 0 的直线 L4 所包围的区域 (图中画斜线的区域) PA 的面积, 即信号强度的时间积分值。

[0054] 在此所示分析用参数的提取方法仅为一例, 可以用其他不同的提取方法。脉冲面

积只要是反映脉冲时间曲线下面积的值即可,也可以是近似值,不限于时间积分值。例如,脉冲面积可以是脉冲宽度与波峰高度的积,也可以是从脉冲宽度与波峰高度求出的三角形面积。在提取时间积分值的方式中,底边也可以不是强度为0的直线,可适当设定。比如,也可以以图4C所示的一定阈值为底边,或者以只有鞘液流入流动室51时的脉冲值为基准值,以此为底边。

[0055] 再次参照图2对第一~第四试剂进行详细说明。第一试剂31u是以缓冲剂为主要成分的试剂。第一试剂31u含有渗透压补偿剂,该渗透压补偿剂能在使红细胞不溶血的情况下获得稳定的荧光信号。第一试剂31u的渗透压调整为100~600mOsm/kg,以获得适合分类测定的渗透压。第一试剂31u对尿中的红细胞没有溶血作用。

[0056] 第二试剂31b与第一试剂31u不同,具有溶血作用。这是为了提高第四试剂32b对真菌和细菌细胞膜的通过性,加快染色速度。同时也为了收缩粘液丝和红细胞碎片等杂质。第二试剂31b为获得溶血作用而含有表面活性剂。表面活性剂可以使用阴离子型、非离子型、阳离子型等各种,但以阳离子型表面活性剂尤为适合。表面活性剂能够破坏真菌和细菌的细胞膜,因此能够更有效地用第四试剂32b含有的色素对真菌和细菌等有核成分中所含有的核酸进行染色。因此,能够以更短时间的染色处理测定真菌和细菌。

[0057] 第二试剂31b也可以不用表面活性剂,而是通过调整为酸性或低pH值获得溶血作用。所谓低pH值指pH值比第一试剂31u低。当第一试剂31u为中性或弱酸性~弱碱性范围内时,第二试剂31b为酸性或强酸性。第一试剂31u的pH值为6.0到8.0时,第二试剂31b的pH值为低于此的pH值,最好为2.0到6.0。第二试剂31b也可以含有表面活性剂,且调整为低pH值。第二试剂31b也可以以低于第一试剂31u的渗透压获得溶血作用。

[0058] 第一试剂31u不含表面活性剂。第一试剂31u也可以含有表面活性剂,但此时必须调整种类和浓度以不使红细胞溶血。第一试剂31u即使不含与第二试剂31b同样的表面活性剂,或含有同样的表面活性剂,也要最好浓度低于第二试剂31b。

[0059] 第三试剂32u为染色无核成分的染色试剂。第三试剂32u所含有的染料选择易与细胞膜的脂质和蛋白质结合而不与核酸结合的荧光色素。此类色素最好是花青(cyanine)类、苯乙烯基(styryl)类和吖啶(Acridine)类色素中不影响红细胞形态的色素。染色无核有形成分的色素最好是脂溶性羰花青(carbocyanine)色素,尤以吖啶羰花青(indocarbocyanine)色素、氧杂羰花青(oxacarbocyanine)色素等为佳。

[0060] 吖啶羰花青(indocarbocyanine)色素具体而言可列举出DiI(1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine perchlorate、(1,1'-二十八烷基-3,3,3',3'-四甲基吖啶羰花青高氯酸盐)), DiD(1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindodicarbocyanine (1,1'-二十八烷基-3,3,3',3'-四甲基吖啶二羰花青)), DiR(1,1'-dioctadecyltetramethylindotricarbocyanine Iodide (1,1'-二十八烷基四甲基吖啶三羰花青碘化物))等。氧杂羰花青(Oxacarbocyanine)色素可列举出:DiOC2(3) (3,3'-diethyloxacarbocyanine iodide (3,3'-二乙基氧杂羰花青碘化物)), DiOC3(3) (3,3-Dipropyloxacarbocyanine iodide (3,3-二丙基氧杂羰花青碘化物)), DiOC4(3) (3,3'-Dibutyloxacarbocyanine iodide(3,3'-二丁基氧杂羰花青碘化物)), DiOC5(3) (3,3-Dipentyloxacarbocyanine iodide (3,3-二戊基氧杂羰花青碘化物))等。染色无核成分的色素尤以DiOC3(3) (3,3-Dipropyloxacarbocyanine iodide

(3, 3'-二丙基氧杂羰花青 碘化物)) 为佳。

[0061] 第四试剂 32b 为染色有核成分的染色试剂。第四试剂液 32b 所含有的染料选择比起脂质和蛋白质更易于与核酸结合的荧光色素。具体而言, 第四试剂 32b 含有用于特异性染色核酸的嵌入剂(intercalator)和结合于小沟(minor groove)的色素。

[0062] 嵌入剂(intercalator) 如有花青(cyanine)类、吡啶(acridine)类和菲啶盐(phenanthridium)类的众所周知的色素。比如, 花青(cyanine)类的嵌入剂(intercalator)有 SYBR Green I、噻唑橙(Thiazole orange)。吡啶(acridine)类嵌入剂(intercalator)有吡啶橙(Acridin orange)。菲啶盐(phenanthridium)类嵌入剂(intercalator)有碘化丙啶(propidium Iodide)、溴化乙锭(Ethidium bromide)。结合于小沟的色素如有 DAPI、赫斯特(Hoechst)等众所周知的色素。比如, 结合于小沟的赫斯特(Hoechst)色素可列举出 Hoechst33342、Hoechst 33258 等。在本实施方式中, 花青(cyanine)类嵌入剂(intercalator)较为理想, 特别是 SYBR Green I、噻唑橙(Thiazole orange)更好。

[0063] 在尿分析模式下, 由一个尿样本分别制备保持红细胞形态且细胞膜被染色的第一测定试样、以及有核成分核酸被染色、红细胞溶血的第二测定试样。用第一测定试样测定尿中的红细胞、管型和结晶。用第二测定试样测定尿中的白细胞、上皮细胞、异型细胞、真菌、精子、毛滴虫和细菌。红细胞和真菌大小相似, 所以精确地将其分类历来是人们的愿望, 而本实施方式用红细胞溶血的第二测定试样测定真菌, 能够不受红细胞影响地精确分类出真菌并进行计数。

[0064] 在体液分析模式下, 由一个体液样本分别制备测定体液中红细胞和结晶的第三测定试样和测定体液中白细胞、大型细胞、真菌和细菌的第四测定试样。用第三测定试样测定体液中的红细胞和结晶。用第四测定试样测定体液中的白细胞、大型细胞、真菌和细菌。通过制备红细胞溶血的第四测定试样, 能够与尿分析模式同样地, 不受红细胞影响地准确测定真菌。

[0065] 尿分析模式下测定尿中有形成分和体液分析模式下测定体液中的红细胞时共用第一试剂 31u 和第三试剂 32u。尿分析模式下的细菌测定和体液分析模式下的体液中白细胞、大型细胞、真菌和细菌的测定中共用第二试剂 31b 和第四试剂 32b。因尿分析模式和体液分析模式共用试剂, 不必准备专用试剂。

[0066] 图 5 为处理部件 13 的结构框图。处理部件 13 由个人电脑构成, 其具有主机 400、输入部件 408 和显示部件 409。主机 400 有 CPU401、ROM402、RAM403、硬盘 404、读取装置 405、输入输出接口 406、图像输出接口 407 和通信接口 410。

[0067] CPU401 执行存储在 ROM402 的计算机程序和下载到 RAM403 中的计算机程序。RAM403 用于读取存储在 ROM402 和硬盘 404 的计算机程序。RAM403 还作为执行这些计算机程序时的 CPU401 的工作空间。

[0068] 硬盘 404 装有各种计算机程序以及执行计算机程序所需要的数据。所装的计算机程序包括操作系统和应用程序等。应用程序中包括分析从测定部件 12 接受的测定数据、输出分析结果的计算机程序。

[0069] 读取装置 405 由 CD 驱动器或 DVD 驱动器等构成, 能够读取存储于存储介质的计算机程序及数据。输入输出接口 406 连接由键盘和鼠标构成的输入部件 408, 用户能够用输入

部件 408 向处理部件 13 输入数据。图像输出接口 407 与由液晶显示屏等构成的显示部件 409 连接,将与图像数据相应的映像信号输出到显示部件 409。显示部件 409 按照输入的映像信号显示图像。处理部件 13 通过通信接口 410 连接测定部件 12,通过通信接口 410 与测定部件 12 传输数据。

[0070] (2. 样本分析装置的作业)

(分析模式的设定)

样本分析装置 100 启动后,处理部件 13 的 CPU401 默认设定为尿分析模式。CPU401 在设定为尿分析模式的状态下接受实施测定的指示(后述图 6 的 S501),让测定部件 12 的微机 21a 进行尿分析用样本测定作业。在尿分析用样本测定作业中获得的测定数据由处理部件 13 的 CPU401 进行分析,根据尿分析模式用计数项目对粒子进行分类和计数。

[0071] 处理部件 13 的 CPU401 能够接受从尿分析模式切换为体液分析模式的模式切换指示。收到模式切换指示后,CPU401 设定为体液分析模式。CPU401 让测定部件 12 的微机 21a 进行前期程序(pre-sequence)。所谓前期程序指作为不含细胞的空白试样测定鞘液,进行背景检查。前期程序的结果确认背景无问题时,CPU401 处于能够接受实施测定指示的状态。CPU401 在设定为体液分析模式的状态下收到实施测定指示(后述图 6 的 S501),则让测定部件 12 的微机 21a 进行体液分析用测定程序。在体液分析用样本测定作业中获得的测定数据由处理部件 13 的 CPU401 进行分析,根据体液分析模式用计数项目进行粒子分类和计数。

[0072] (样本测定作业本)

参照图 6 说明样本测定作业。尿分析模式下的样本测定作业和体液分析模式下的样本测定作业基本程序相同,因此,以下用同一流程图说明两种模式下的样本测定作业。

[0073] 在图 6 的步骤 S501,从处理部件 13 的输入部件 408 输入实施测定的指示。在体液分析模式下,处理部件 13 的显示部件 409 上显示图 7 所示信息输入界面 450。用户通过此信息输入界面能够输入样本 ID 和体液样本的种类。体液样本的种类的选项有脑脊髓液、关节液、体腔液和其他、无指定四种。操作各选项旁边显示的单选按钮能够输入体液样本的种类。体液样本有时会进行紧急测定,为避免着急操作而误输入,默认选择为“无指定”。也可以在不指定体液样本种类的情况下开始测定。用户输入体液样本种类后操作 OK 按钮,则实施测定指示便传输到 CPU401。

[0074] 收到此指示,CPU401 在步骤 S502 向测定部件 12 发送指示开始测定的指示数据。在步骤 S503,测定部件 12 收到指示数据后,微机 21a 进行步骤 S504 的测定试样制备处理、步骤 S505 的无核成分测定处理和步骤 S506 的有核成分测定处理。

[0075] 如图 8 所示,在测定试样制备处理过程 S504 中,在步骤 S601 和 S602,微机 21a 控制制备部件 30 让吸管 19 从试管 10 吸移一定量样本 11,并分别将一定量样本分装到反应槽 30u 和反应槽 30b。

[0076] 在步骤 S603 和 S604,反应槽 30u 中除了样本 11 外还定量并注入一定量第一试剂(稀释液)31u 和第三试剂(染色液)32u。在步骤 S605 和 S606,反应槽 30b 也同样地,除了样本 11 外还定量并注入一定量第二试剂(稀释液)31b 和第四试剂(染色液)32b。

[0077] 反应槽 30u 和反应槽 30b 分别由无图示加热器加热到一定温度。在步骤 S607,在加热状态下用螺旋桨状的搅拌器(无图示)搅拌试样。以此,在尿分析模式下,在反应槽 30u 制备无核成分测定用第一测定试样,在反应槽 30b 制备有核成分测定用第二测定试样。在

体液分析模式下,在反应槽 30u 制备无核成分测定用第三测定试样,在反应槽 30b 制备有核成分测定用第四测定试样。步骤 S607 的处理结束后,微机 21a 将处理返回主程序。

[0078] 返回图 6,在无核成分测定处理 S505 中,微机 21a 从压缩机 35a 向鞘液收纳部件 35 供应压缩空气,以此将鞘液送往流动室 51。微机 21a 在连续向流动室 51 供应鞘液的状态下,驱动注射泵 34b 从反应槽 30u 向流动室 51 供应第三测定试样。

[0079] 在较为理想的实施方式中,注射泵 34b 单位时间的推出量也可以在尿分析模式与体液分析模式各不相同。体液分析模式下的单位时间推出量最好是尿分析模式下的八分之一。

[0080] 体液样本往往比尿红细胞浓度高。如图 9A 所示,由体液制备的测定试样的单位时间推出量多,会出现多个红细胞同时通过激光的情况。如图 9B 所示,减少单位时间推出量,试样流径会变小。以此,红细胞能够逐个个别地通过激光,从而计数精度得到提高。

[0081] 微机 21a 让激光光源 53 照射激光光束。以此产生第三测定试样中的粒子的前向散射光、荧光、侧向散射光和消偏侧向散射光。前向散射光、荧光、侧向散射光和消偏侧向散射光分别被前向散射光受光部件 55、荧光受光部件 59、侧向散射光受光部件 58a 和消偏侧向散射光受光部件 58b 接受,转换成 FSC、FLH、FLL、SSC、PSSC 五种光学信号。

[0082] 光学检测器 22a 输出的光学信号在放大电路 22b 放大,由滤波电路 23 进行滤波处理后,由 A/D 转换器 24 转换为数字信号。数字信号处理电路 25 从各光学信号提取分析用参数。提取的特征参数作为测定数据存入存储器 26。

[0083] 在有核成分测定处理 S506 中,微机 21a 与上述无核成分测定处理同样地,驱动压缩机 35a 和注射泵 34b,将第四测定试样从反应槽 30b 供应到有鞘液供应的流动室 51。微机 21a 使激光光源 53 照射激光光束。以此从第四测定试样中的粒子检测出五种光学信号,提取各光学信号的分析用参数,并将其存入存储器 26。

[0084] 第四测定试样的供应开始一定时间后,微机 21a 将前向散射光受光部件 55、侧向散射光受光部件 58、荧光受光部件 59 的受光灵敏度设为高灵敏度供细菌测定用。具体而言,增益设定为 5 倍。这是因为细菌比其他有核细胞小,荧光量比有核细胞测定时低。提高灵敏度能够精确地检测出细菌发出的微量的光。

[0085] 受光灵敏度切换后,向流动室 51 供应鞘液和第四测定试样的作业、以及照射激光光束的作业继续一定时间。以此从第四测定试样中的粒子检测出五种光学信号,并提取各光学信号的分析用参数,将其存入存储器 26。

[0086] 在步骤 S507,微机 21a 向处理部件 13 发送无核成分测定处理和有核成分测定处理生成的测定数据,结束处理。

[0087] 在步骤 S508,处理部件 13 接收来自微机 21a 的无核成分测定处理和有核成分测定处理生成的测定数据。

[0088] 在步骤 S509, CPU401 进行测定数据的分析处理,生成样本分析结果,将该分析结果存入硬盘 404。在步骤 S510, CPU401 显示分析结果。

[0089] 图 10 显示了步骤 S509 的分析处理的子程序。CPU401 进行步骤 S801 的无核成分分类处理、步骤 S802 的白细胞和大型细胞分类处理、步骤 S803 的真菌检测处理以及步骤 S804 的细菌检测处理。

[0090] 在尿分析模式下的无核成分分类处理 S801, CPU401 使用从第一测定试样获得的

FSC 和 FLH, 识别并计数红细胞和结晶。图 11 为红细胞和结晶的分布图。图 11 的横轴表示 FLH 强度 (FLHP), 纵轴表示 FSC 强度 (FSCP)。如图 11 所示, 红细胞分布区域 R11 与结晶分布区域 R12 在 FLHP 上有差异。这是因为结晶与红细胞被色素染色的难易程度不同。因此, 红细胞与结晶根据 FLHP 分类。

[0091] 体液分析模式下的无核成分分类处理 S801 也同尿分析模式一样, 使用从第三测定试样获得的 FSC 和 FLH, 识别并计数红细胞和结晶。

[0092] 在无核成分分类处理 S801, 图 11 所示区域 R11 中所含有的粒子作为红细胞检测出来并计数。图 11 所示区域 R12 中所含有的粒子作为结晶检测出来并计数。

[0093] 在尿分析模式下的无核成分分类处理 S801, 还用从第一测定试样获得的 FLLW 和 FLLA 计数管型。体液中不含管型, 故在体液分析模式下, 不对管型进行计数。

[0094] 在尿分析模式下的白细胞和大型细胞分类处理 S802, 使用切换灵敏度前从第二测定试样获得的 FSC 和 FLL 检测出并计数白细胞、上皮细胞、异型细胞。散射光信号反映粒子大小。荧光信号反映粒子中的核酸量。白细胞、上皮细胞、异型细胞比真菌和细菌等核酸含量高, 荧光量大, 因此, 作为荧光信号 (FL), 用低灵敏度获得的第二荧光信号 (FLL) 进行检测。

[0095] 如图 12A 所示, 在 FLLA—FSCW 空间分布有白细胞、异型细胞和上皮细胞。图 12A 的横轴表示 FLL 的脉冲面积 (FLLA)。图 12A 的纵轴表示 FSC 的脉冲宽度 (FSCW)。如图 12A 所示, 白细胞和上皮细胞与异型细胞在 FLLA 上有差异。这是因为白细胞与上皮细胞核酸量相差无几, 而异型细胞比白细胞和上皮细胞核酸量多。

[0096] 白细胞和上皮细胞在 FSCW 上有差异。这是因为作为大型细胞的上皮细胞比白细胞大。因此, 白细胞、大型细胞 (上皮细胞) 和异型细胞根据 FLLA 和 FSCW 进行分类。在白细胞和大型细胞分类处理 S802, 图 12A 所示区域 R21 中含有的粒子作为异型细胞检测出来并计数。白细胞检测结果一例显示在图 12B。图 12A 所示区域 R22 中含有的粒子作为白细胞检测出来并计数。图 12A 所示区域 R23 中含有的粒子作为上皮细胞检测出来并计数。

[0097] 体液分析模式下的白细胞和大型细胞分类处理 S802 同尿分析模式同样地, 使用从第四测定试样获得的 FSC 和 FLH、使用 FSC 和 FLL 检测出并计数白细胞、上皮细胞、异型细胞。上皮细胞和异型细胞统一作为大型细胞 (LC) 计数。计数的大型细胞除上皮细胞外, 也可以包括肿瘤细胞等其他有核细胞。

[0098] 体液样本中, 比较大的细胞除白细胞外还有比白细胞还大的有核细胞, 即上皮细胞或肿瘤细胞等。散射光信号脉冲宽度 (FSCW) 和荧光信号脉冲面积 (FLLA) 的组合适合检测大的有核细胞。因此, 能够分别精确计数体液中的白细胞数和大型细胞数。

[0099] 在体液分析模式下的白细胞和大型细胞分类处理 S802, 不仅分别计数白细胞数和上皮细胞数, 还计数包含白细胞数、上皮细胞 (大型细胞) 和异型细胞在内的有核细胞的总数, 将其作为总有核细胞数 (TNC)。

[0100] 在此, 在体液分析模式下作为计数项目的粒子既有红细胞和白细胞等与尿分析模式同样的粒子, 也有如大型细胞数和总有核细胞数等在尿分析模式下不计数的成分。另一方面, 在尿分析模式下, 计数体液分析模式不计数的管型等。如此, 样本分析装置 100 在尿分析模式和体液分析模式分别根据特有的计数项目进行分类和计数。

[0101] 即使第四测定试样中含有细菌或真菌时, 由于细菌和真菌比白细胞小很多, 用图

12A 所示区域 R22、R23 能够将白细胞和上皮细胞分别与细菌或真菌区分开。因此,将白细胞和比白细胞大的有核细胞与真菌或细菌区分开,求出白细胞和比白细胞大的有核细胞的总数作为总有核细胞数(TNC)。

[0102] 在体液分析模式下的白细胞和大型细胞分类处理 S802,进一步分类作为区域 R22 中所含有的粒子检测出来的白细胞(参照图 12B)。在此,将白细胞进行二分类,分为单核白细胞(mononuclear WBC (MN))和多形核白细胞(polymorphonuclear WBC (PMN))。分类的白细胞种类数无特别限定,比如也可以对白细胞进行五分类,分成淋巴细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞五类。体液中所含有的白细胞数量小,故将白细胞分出多类的话,分类后的每类白细胞数会很少,分类精度有可能下降。因此,白细胞分类中二分类比较合适。

[0103] 在白细胞分类中,使用灵敏度切换前从第四测定试样测定获得的前向散射光信号(FSC)和侧向散射光信号(SSC)。通过白细胞分类,分别检测出单核白细胞和多形核白细胞,计数单核白细胞数(MN#)和多形核白细胞数(PMN#)。根据这些数的比率算出单核白细胞比率(MN%)和多形核白细胞比率(PMN%)。

[0104] 如图 13 所示,在 SSCP-FSCP 空间分布有单核白细胞和多形核白细胞。图 13 的横轴表示侧向散射光信号强度(SSCP),图 13 的纵轴表示前向散射光信号强度(FSCP)。在白细胞分类中,也可以使用荧光信号强度和侧向散射光信号强度。

[0105] 将用于白细胞分类的检测结果显示在图 14A 到图 14C。图 14A 为含有大量单核白细胞的体液样本的检测结果的散点图。图 14B 为含有大量多形核白细胞的体液样本的检测结果的散点图。图 14C 为单核白细胞和多形核白细胞均含有很多的体液样本的检测结果的散点图。

[0106] 在尿分析模式下的白细胞和大型细胞分类处理 S802 不进行白细胞分类。因为尿中的白细胞不如体液中的白细胞形态稳定,有时很难进行可信度高的分类。但是,这只不过是一实施方式,尿分析模式也可以与体液分析模式一样地进行白细胞分类。

[0107] 在尿分析模式下的真菌检测处理 S803,使用灵敏度切换前从第二测定试样获得的 FSC 和 FLH,检测并计数真菌。真菌比白细胞和大型细胞核酸量少,荧光量比较小,因此,荧光信号(FL)使用比 FLL 高的灵敏度获得的 FLH。为了区别于灵敏度切换后获得的 FLH(后述 FLH2),将灵敏度切换前的 FLH 称为 FLH1。白细胞和真菌核酸量不同,因此,通过分别使用检测灵敏度不同的荧光信号 FLL 和 FLH1,能够将白细胞等与真菌区分开并计数。

[0108] 如图 15A 所示,在 FLHP1-FSCP 空间分布着真菌。图 15A 的横轴表示 FLH1 强度(FLHP1)。图 15A 的纵轴表示前向散射光强度(FSCP)。图 15A 所示区域 R42 中所含有的粒子作为真菌检测出来并计数。真菌的检测结果一例显示在图 15B。

[0109] 在尿分析模式下的无核成分分类处理 S801,还使用从灵敏度切换前的第四测定试样获得的 FSC 和 FLH,将区域 R41 和区域 R43 中所含有的粒子作为精子和毛滴虫检测出来并计数。

[0110] 在体液分析模式下的真菌检测处理 S803,与尿分析模式相同地,使用在灵敏度切换前从第四测定试样获得的 FSC 和 FLH,检测出并计数真菌。体液中不含有精子和毛滴虫,故这些物质在体液分析模式下不计数。

[0111] 在尿分析模式下的细菌检测处理 S804,使用在灵敏度切换后从第四测定试样获得

的 FSC 和 FLH2, 检测出并计数细菌。FLH2 是灵敏度切换后获得的 FLH。细菌比真菌还小, 且核酸量也少, 因此, 荧光量比真菌还少。因此, 细菌使用以最高灵敏度获得的 FLH2 检测。在此使用的前向散射光 (FSC) 也比真菌和白细胞等的检测中所使用的前向散射光信号 (FSC) 灵敏度高。

[0112] 如图 16 所示, 在 FLHP2—FSCP 空间分布着细菌。图 16 的横轴表示切换灵敏度后的高灵敏度荧光 FLH2 的强度 (FLHP2)。图 16 的纵轴表示高灵敏度前向散射光强度 (FSCP)。图 16 所示区域 R5 中所含有的粒子作为细菌检测出来并计数。

[0113] 在体液分析模式下的细菌检测处理 S804, 与尿分析模式相同地, 使用在灵敏度切换后从第四测定试样获得的 FSC 和 FLH2, 检测出并计数细菌。

[0114] 图 17 显示了细菌、真菌、白细胞、上皮细胞、异型细胞各自的核酸量 (DNA 量) 与粒径。如上所述, 样本分析装置 100 能够用一个测定试样广泛地分析从粒径非常小、核酸量也少的细菌到粒径很大核酸量也多的上皮细胞 (大型细胞) 的粒径不同的尿中和体液中的有形成分。

[0115] 样本分析装置 100 用同一个光学检测器 22a 就能分别精确地检测出广范围分布的粒子, 因此, 能够以第一检测灵敏度、第二检测灵敏度和第三检测灵敏度三种检测灵敏度从检测部件 50 获得检测信号。第一检测灵敏度是最低的灵敏度, 第二检测灵敏度是比第一检测灵敏度高的灵敏度。第三检测灵敏度比第二检测灵敏度高。

[0116] 在本实施方式中, 以第一检测灵敏度获得的检测信号是灵敏度切换前获得的低灵敏度荧光信号 (FLL)。以第二检测灵敏度获得的检测信号是灵敏度切换前获得的高灵敏度荧光信号 (FLH1)。以第三检测灵敏度获得的检测信号是灵敏度切换后获得的高灵敏度荧光信号 (FLH2)。

[0117] 基于以第一检测灵敏度获得的低灵敏度荧光信号 (FLL) 的第一特征参数 FLLA 如图 12A 所示, 用于白细胞和大型细胞分类处理 S802。基于以第二检测灵敏度获得的高灵敏度荧光信号 (FLH1) 的第二特征参数 FLHP1 如图 15A 所示, 用于真菌检测处理 S803。基于以第三检测灵敏度获得的高灵敏度荧光信号 (FLH2) 的第三特征参数 FLHP2 如图 16 所示, 用于细菌检测处理 S804。

[0118] 在白细胞和大型细胞分类处理 S802, 使用荧光脉冲面积 (FLLA) 作为特征参数, 在真菌检测处理 S803 和细菌检测处理 S804, 使用荧光强度 (FLHP1、FLHP2) 作为特征参数。荧光脉冲面积和荧光强度分别使用的理由如下。

[0119] 在本实施方式中, 由光源 53 形成的射束点在试样流向方向的直径 W 约为 $4\sim 7\mu\text{m}$ 。与此相对, 上皮细胞、异型细胞和白细胞核径比射束点直径 W 大。真菌的核、细菌比射束点直径 W 小。

[0120] 如图 18A 所示, 大型细胞 LC 的核 N1 比射束点直径 W 大, 所以射束点中容纳不下大型细胞 LC 的核 N1。荧光信号强度只反映被照射的核的一部分核酸量。而用时间对荧光信号强度进行积分的面积值 LA1 则可以认为是反映核整体核酸量的值。对大型细胞 LC 而言, 用时间对荧光信号强度进行积分获得的荧光脉冲面积值 LA1 适合作为反映核整体核酸量的参数。

[0121] 真菌等小型细胞 SC 如图 18B 所示, 核 N2 比射束点直径 W 小, 所以细胞 SC 的核 N2 完全在射束点之中。真菌和细菌那种特别小型的细胞的粒子全部收于射束点之中。如果前

进方向上有细胞 SC 前进时,从核 N2 进入射束点到出去的期间,整个核 N2 连续受到照射。因此,反映小型细胞 SC 核酸量的参数使用用时间对荧光信号强度进行积分求得的面积值 LA2,则看到的值比实际的核酸量要大。另一方面,荧光信号强度可以认为是反映核实际核酸量的值。因此,对小型细胞 SC 而言,荧光强度适合作反映核酸量的参数。

[0122] 白细胞直径约为 10~15 μm ,真菌(未出芽真菌)直径约为 3~8 μm 。白细胞与真菌有着相近的大小,因此区分白细胞与真菌并不容易,但本实施方式能够区分白细胞与真菌,并对二者计数。本实施方式中,白细胞与真菌分别使用检测灵敏度不同的荧光信号 FLL 和 FLH1,同时,对白细胞使用荧光脉冲面积,对作为小型细胞的真菌使用荧光强度,以此根据核酸量的不同使区分白细胞和真菌变得很容易。

[0123] 返回图 6,在尿分析模式下的分类计数结果的分析 and 显示处理步骤 S510, CPU401 使显示部件 409 显示包括尿中有形成分的分类计数结果和散点图在内的计数结果界面。计数结果界面上显示的计数结果包括红细胞、白细胞、管型、上皮细胞、细菌、真菌、精子、毛滴虫和异型细胞的数量。

[0124] 在体液分析模式下的分类计数结果的分析 and 显示处理步骤 S510, CPU401 比如进行图 19 所示处理。在此处理中,根据体液中所含有的数种粒子的分析结果(计数结果)进行判断。具体而言,根据显示异常值的粒子种类组合,对所怀疑的炎症进行判断。

[0125] 在步骤 S851, CPU401 判断收到的体液样本种类。当体液种类为脑脊髓液时,在 S852,按照脑脊髓液用判断条件进行炎症判断。当体液种类为关节液时,在 S853,按照关节液用判断条件进行炎症判断。当体液种类为体腔液时,在 S854,按照体腔液用一个或数个判断条件进行炎症判断。当未指定体液种类时,在 S855,判断是否符合 S852~S854 所使用的判断条件其中之一。S852~S854 的各个判断条件设定在硬盘 404 中。

[0126] 在 S852 的关于脑脊髓液的炎症判断中使用的数个判断条件比如有以下条件 A1 至 A4。以下所示条件只是一例示,各判断条件中包含的阈值能够由用户适当设定。

[0127] 用于判断对细菌性脑膜炎的怀疑的第一条件 A1:(白细胞数 1000 个/ μL 以上)且(多形核白细胞数占优势)且(细菌数 1000 个/ μL 以上)

用于判断对真菌性脑膜炎的怀疑的第二条件 A2:(白细胞数 100 个/ μL 以上)且(单核白细胞数占优势)且(真菌数 100 个/ μL 以上)

用于判断对病毒性脑膜炎的怀疑的第三条件 A3:(白细胞数 10 个/ μL 以上)且(单核白细胞数占优势)且(第一条件 A1 和第二条件 A2 哪个条件都不满足)

用于判断对肿瘤性脑膜炎的怀疑的第四条件 A4:(异型细胞 10 个/ μL 以上)

关于多形核白细胞数和单核白细胞数,所谓“占优势”指在白细胞总数中所占比率较高的一者。即,单核白细胞的比率(MN%)和多形核白细胞的比率(PMN%)相比时, MN% > PMN% 则单核白细胞占优势,若 MN% \leq PMN% 则多形核白细胞占优势。正常脑脊髓液中所含有的白细胞几乎(约 98%)都是单核白细胞,当发生细菌性脑膜炎时,多形核白细胞占优势。

[0128] 在 S853 的关于关节液的炎症判断中使用的数个判断条件比如有以下条件 B1 和 B2。

[0129] 用于判断对化脓性关节炎的怀疑的第一条件 B1:(白细胞数 1000 个/ μL 以上)且((细菌数 1000 个/ μL 以上)或(真菌数 1000 个/ μL 以上))

用于判断对晶体性关节炎(crystal-induced arthritis)的怀疑的第二条件 B2:(白

细胞数 100 个 / μL 以上) 且(结晶数 10000 个 / μL 以上)

在 S854 的关于体腔液的炎症判断中使用的数个判断条件比如有以下条件 C1 到 C3。

[0130] 用于判断对细菌性炎症的怀疑的第一条件 C1 : (白细胞数 1000 个 / μL 以上) 且(多形核白细胞数占优势) 且(细菌数 1000 个 / μL 以上)

用于判断对真菌性炎症的怀疑的第二条件 C2 : (白细胞数 100 个 / μL 以上) 且(单核白细胞数占优势) 且(真菌数 100 个 / μL 以上)

用于判断对肿瘤性炎症的怀疑的第三条件 C3 : (异型细胞数 10 个 / μL 以上)

CPU401 在 S856 判断是否怀疑有炎症。如怀疑有炎症, CPU401 在 S857 在判断结果上附加疑似信息。当体液样本种类“无指定”, 并满足某个判断条件时, 则附加上所满足的判断条件的信息, 以此取代疑似信息。

[0131] CPU401 在 S858 根据以下条件 D1 判断是否怀疑有出血。判断对出血的怀疑的条件 D1 : (红细胞 1000 个 / μL 以上)

若怀疑出血, 则在 S859, CPU401 在判断结果中附加催促用户进行红细胞校正的红细胞校正信息。

[0132] 在 S860, CPU401 使显示部件 409 显示包含分类计数结果的计数结果界面、包含判断结果的判断结果界面。计数结果界面与尿分析模式同样地包含计数结果和散点图。在体液分析模式下显示在计数结果界面的计数结果包括红细胞、白细胞、单核白细胞(MN)、多形核白细胞(PMN)、有核细胞(TNC)、大型细胞(LC)、细菌、真菌、异型细胞的数量。界面还包括单核白细胞比率(MN%) 和多形核白细胞比率(PMN%)。

[0133] 当在 S857 中判断结果上附加有疑似信息时, CPU401 还显示包含疑似信息的判断结果界面。图 20 是此判断结果显示界面一例。

[0134] 如图 20 所示, 判断结果界面包括样本 ID、体液种类、在 S852~S854 作为判断结果获得的疑似信息、以及作为该判断根据的分类计数结果。在此例中, 作为疑似信息显示的是表示怀疑细菌性脑膜炎的“细菌性脑膜炎? ”。还同时显示作为判断根据的白细胞数、白细胞比率和细菌数。以此能够帮助操作人员根据分类计数结果判断对炎症的怀疑。

[0135] 当在 S859 中判断结果上附加有红细胞校正信息时, CPU401 还显示包含红细胞校正信息的判断结果界面。图 21 是此判断结果显示界面一例。

[0136] 如图 21 所示, 判断结果界面包含样本 ID、体液种类、红细胞数、白细胞数和敦促用户进行校正的信息。判断结果界面还包括接受对校正的许可作业的是按钮和接受对校正的放弃作业的否按钮。

[0137] 脑脊髓液和关节液均由穿刺针穿刺入体内采集, 所以穿刺时有时会混入血液(末梢血)。混入的血液含有白细胞, 如果不减去混入的血液中的白细胞, 可能无法正确地计数体液中的白细胞数。因此, 当红细胞数多且超过阈值时, 根据红细胞数校正白细胞数, 来求出正确的白细胞数。

[0138] 如果在 S861 选择图 21 中的是, 则 CPU401 在 S862 根据红细胞数校正白细胞数。校正公式如下 : $WBC^* = WBC - (RBC/F)$

在上式中, WBC^* 为校正后的白细胞数。F 为用户可任意设定的值, 该值使用的是红细胞相对于末梢血中所含有的 1 个白细胞的数量。以 $F=480\sim 1100$ 为宜。

[0139] 在已知道受检者的末梢血中红细胞数(RBC_{B1}) 和末梢血中白细胞数(WBC_{B1}) 的

情况下,也可以接受这些数值的输入,以此校正红细胞。此时,可以使用以下校正公式:
$$WBC^* = WBC - (WBC_{B1} / RBC_{B1}) \times RBC$$

在 S863, CPU401 在计数结果界面追加显示红细胞校正后的白细胞数,并结束处理。

[0140] 在判断结果显示后,CPU401 还可以接受用户对体液样本种类的更改。例如,当用户误将体腔液选为体液样本种类,并在看到显示的判断结果后发现种类有误时,用户能够修改体液样本的种类。此操作只能在计数结果验证之前进行。用户修改体液样本的种类后,再次实施 S851 的处理,根据修改后的体液种类进行炎症判断。

[0141] 能够对体液中的白细胞和真菌计数的样本分析装置在过去是没有的,而本实施方式的样本分析装置 100 能够通过一台装置对体液中的白细胞和真菌计数。以此,比如当脑脊髓液中的白细胞和真菌值很高时,用户可以怀疑是真菌性脑膜炎(隐球菌性脑膜炎)。

[0142] 本实施方式的样本分析装置 100 从体液中的红细胞溶血的测定试样计数白细胞和真菌。真菌和红细胞大小相近,且体液可能比尿含有更多的红细胞,但根据本实施方式,通过使红细胞溶血,能够不受红细胞影响地精确计数真菌。

[0143] 采用本实施方式的样本分析装置 100,用一台装置就能够对体液中的白细胞、真菌和细菌计数。以此,例如当分析脑脊髓液,白细胞数量值很大时,通过一并确认细菌数和真菌数,能够帮助诊断受检者是细菌性脑膜炎还是真菌性脑膜炎。

[0144] 采用本实施方式的样本分析装置 100,能够将体液中的白细胞分类为单核白细胞和多形核白细胞。在体液检查中,除了白细胞数量以外,单核白细胞和多形核白细胞哪个更占优势这一信息在临床上也很重要。根据本实施方式,通过白细胞分类,能够提供对体液检查有用的信息。

[0145] 采用本实施方式的样本分析装置 100,能够对白细胞分类且能够对细菌和真菌进行计数。通过脑脊髓液检查分类的代表性脑膜炎有细菌性脑膜炎、真菌性脑膜炎和病毒性脑膜炎。其中,细菌性脑膜炎能够根据白细胞数的显著增多和单核细胞的减少与其他脑膜炎区分开。另一方面,真菌性脑膜炎和病毒性脑膜炎均有白细胞数增多,但用白细胞比率很难区分。然而,根据本实施方式,能够与白细胞一起计数真菌,所以在判断是否为真菌性脑膜炎时能够考虑真菌数量。真菌数少的话,可以怀疑为病毒性脑膜炎。关于细菌性脑膜炎也同样,除了白细胞数和白细胞比率之外再提供细菌数,也能够对得出更加正确的判断有所帮助。因此,根据本实施方式,通过一台样本分析装置就能够一次性地提供对脑膜炎的诊断有用的信息。

[0146] (红细胞和结晶的计数方法的其他例)

下面参照图 22 说明对体液中的红细胞数和结晶数进行计数的其他方法。在上述实施方式中,如图 19 所示,用 FLH 和 FSC 识别红细胞和结晶,但也可以用消偏散射光 PSS 识别红细胞和结晶。

[0147] 如图 22(a)所示,处理部件 13 的 CPU401 根据 S505 的无核成分测定处理获得的特征参数,将粒子点绘于以前向散射光信号脉冲宽度(FSCW)和前向散射光信号强度(FSCP)为两个轴的第一散点图上。并在第一散点图设定固定的区域 A11。

[0148] 在图 22(a),区域 A11 是第一或第三测定试样中所含有的红细胞和结晶的相应区域,区域 A11 以外的区域是测定试样中所含有的灰尘和细菌等的相应区域。CPU401 提取第一散点图上的区域 A11 中所含有的粒子。

[0149] CPU401 如图 22 (b)所示,将从区域 A11 提取的粒子点绘于以消偏侧向散射光信号强度(PSSCP)和前向散射光信号强度(FSCP)为两条轴的第二散点图上。并在第二散点图设定固定的区域 A21、A22。

[0150] 在图 22 (b),横轴的 PSSCP 表示粒子产生的侧向散射光中相对于照射光垂直偏振的光的量、即消偏振的程度。与红细胞相比,结晶易产生消偏振,分布在 PSSCP 的值大的区域。图 22 (b)的区域 A21、A22 分别对应于红细胞和结晶。CPU401 将区域 A21 中含有的粒子作为红细胞计数,将区域 A22 中含有的粒子作为结晶计数。

[0151] 红细胞和结晶均无核,且大小相同,因此在结晶含量多的样本中,结晶有可能使红细胞分类精度降低。使用消偏侧向散射光,红细胞几乎不产生消偏振,结晶则有异向性,会产生消偏振,所以用消偏侧向散射光能够精确地识别红细胞和结晶。因此,即使是针对含有大量结晶的尿样本也能精确计数红细胞。关节液有时会含有结晶,但由于采集关节液时会混入血液,所以提高红细胞和结晶的分类精度,有助于关节液的正确判断。

[0152] (其他实施方式)

上述实施方式中的体液分析模式下的粒子计数功能、基于体液中成分判断炎症的功能和基于红细胞数校正白细胞的功能在以血细胞计数仪进行体液分析时也可以使用。

[0153] 测定部件 12 和处理部件 13 也可以是一体的。比如,也可以将处理部件 13 组装在测定部件 12 内。

[0154] 符号说明

11	样本
31u	第一试剂
31b	第二试剂
32u	第三试剂
32b	第四试剂
30	制备部件
50	检测部件
13	处理部件
100	样本分析装置

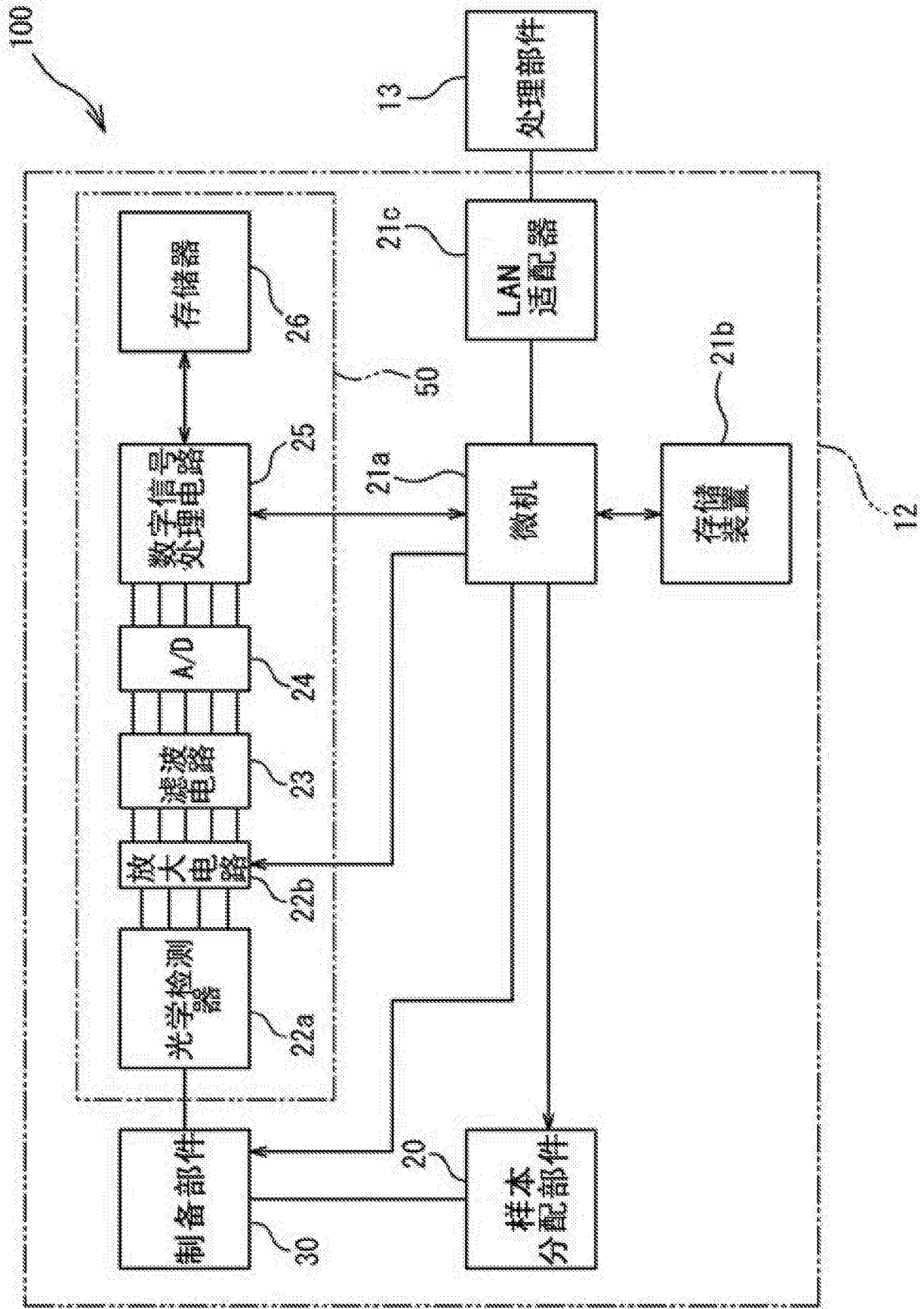


图 1

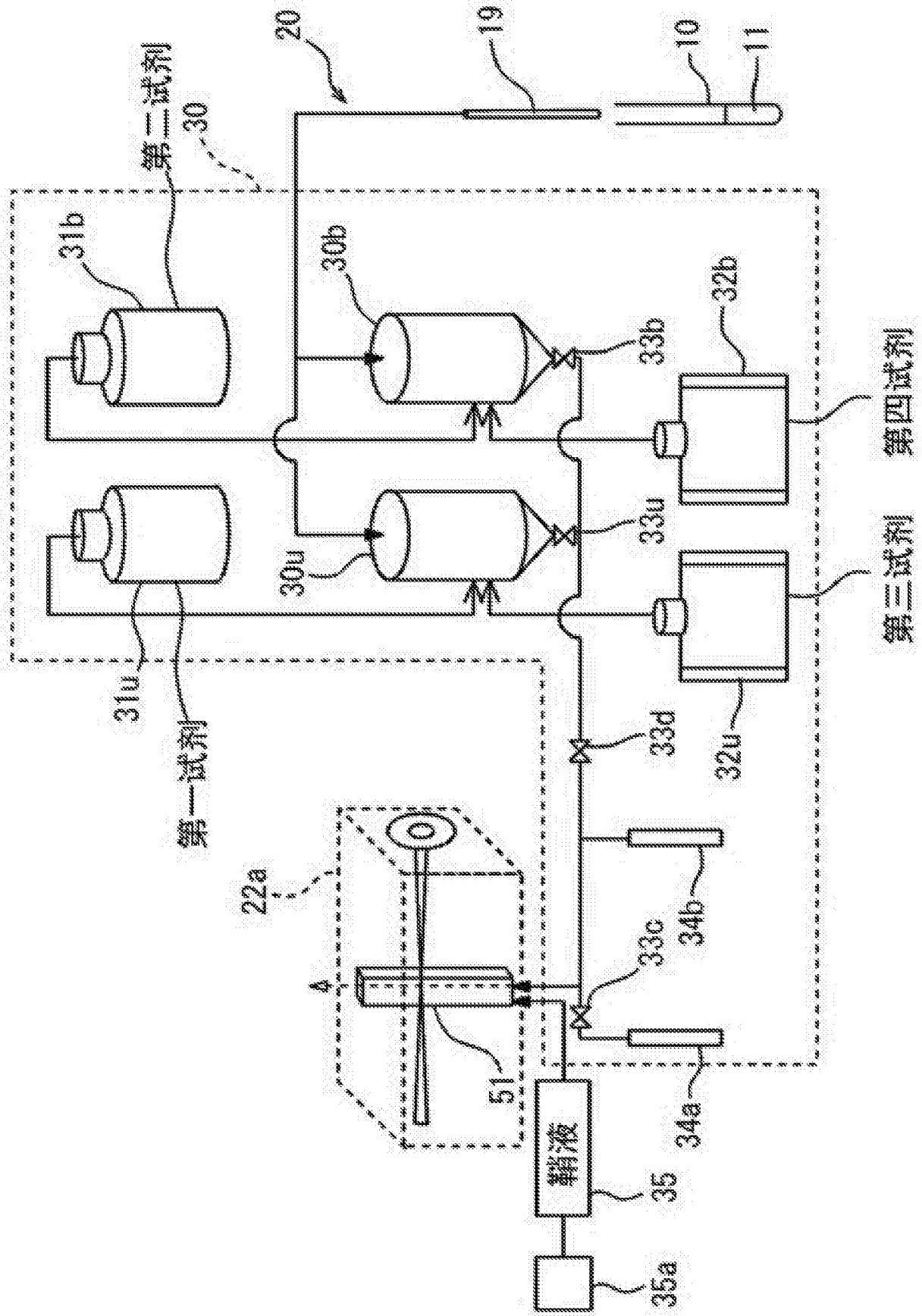


图 2

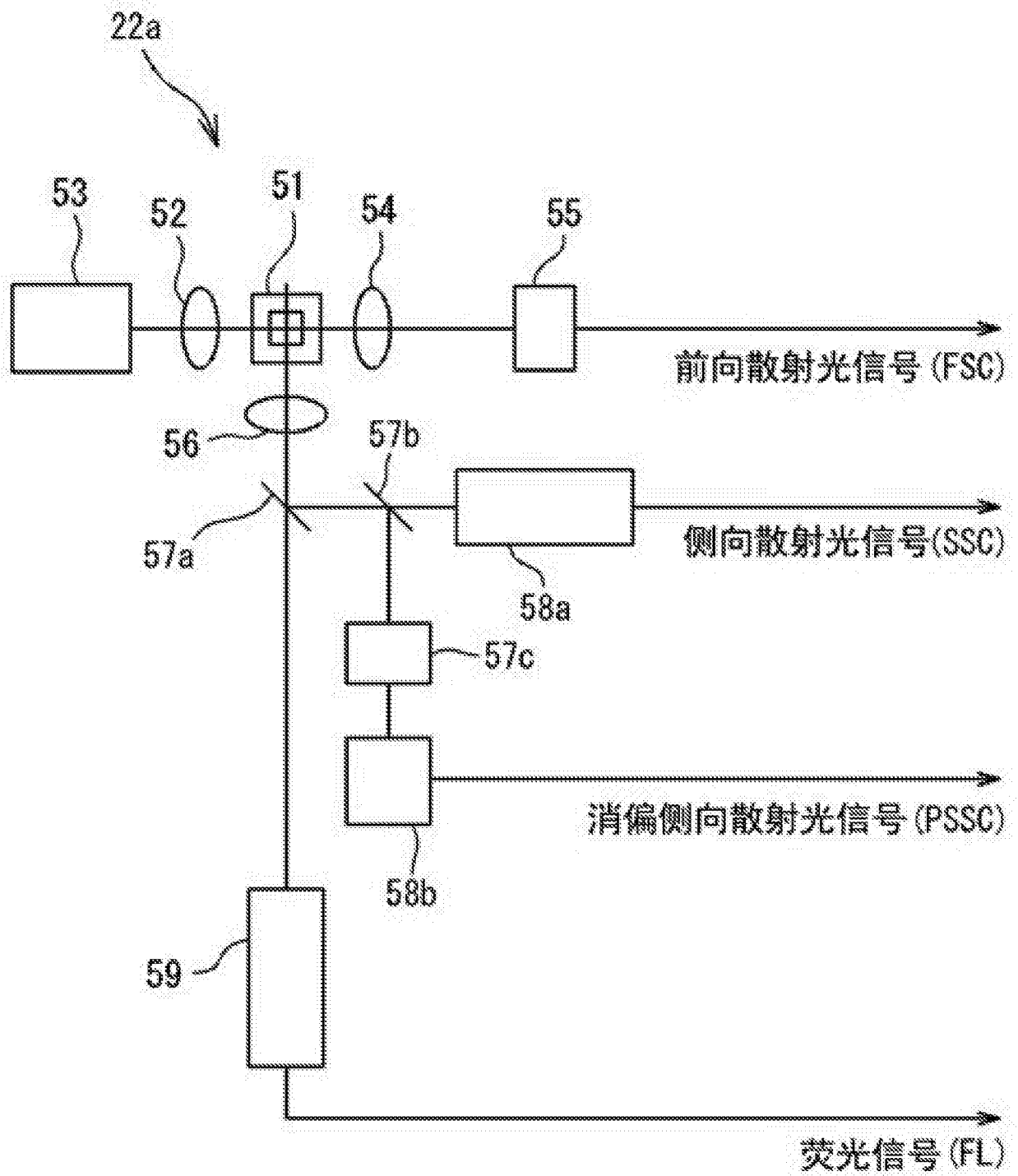


图 3

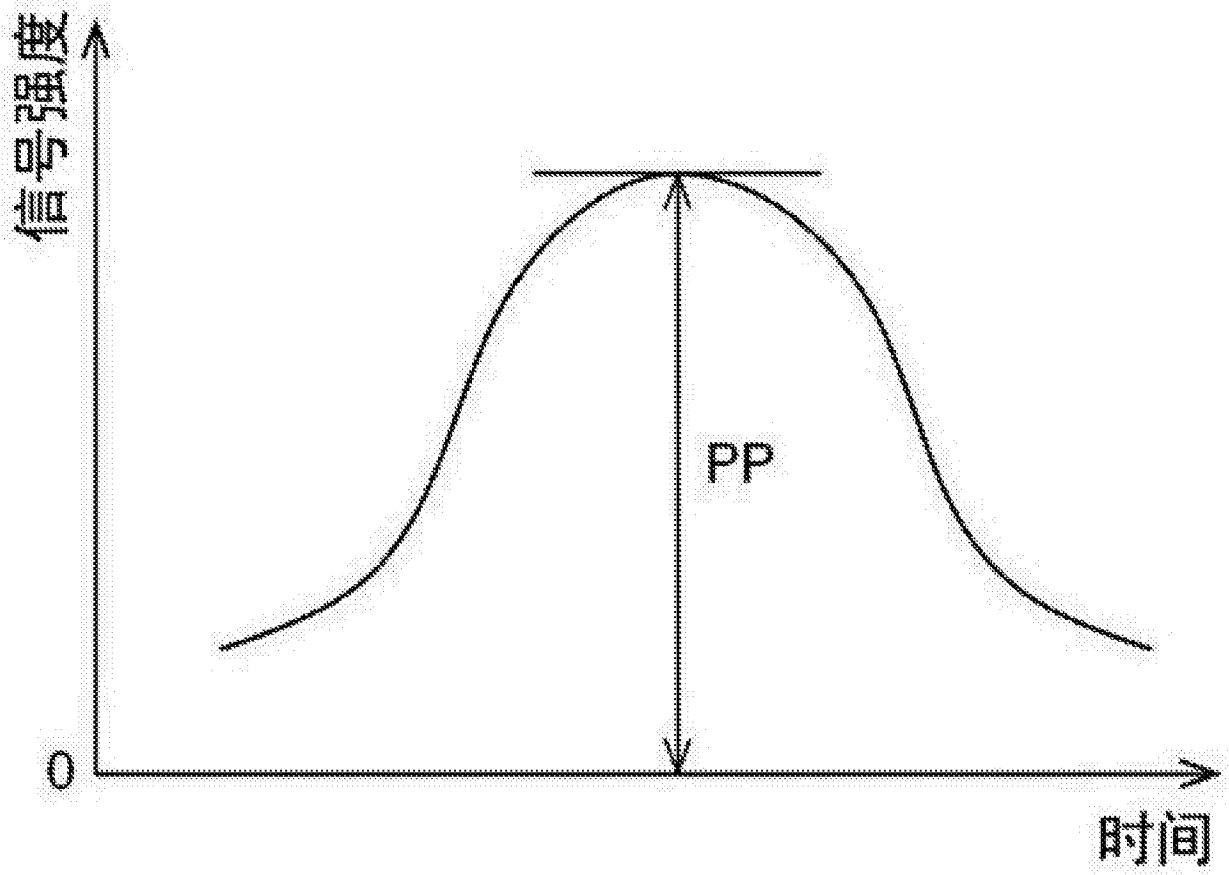


图 4A

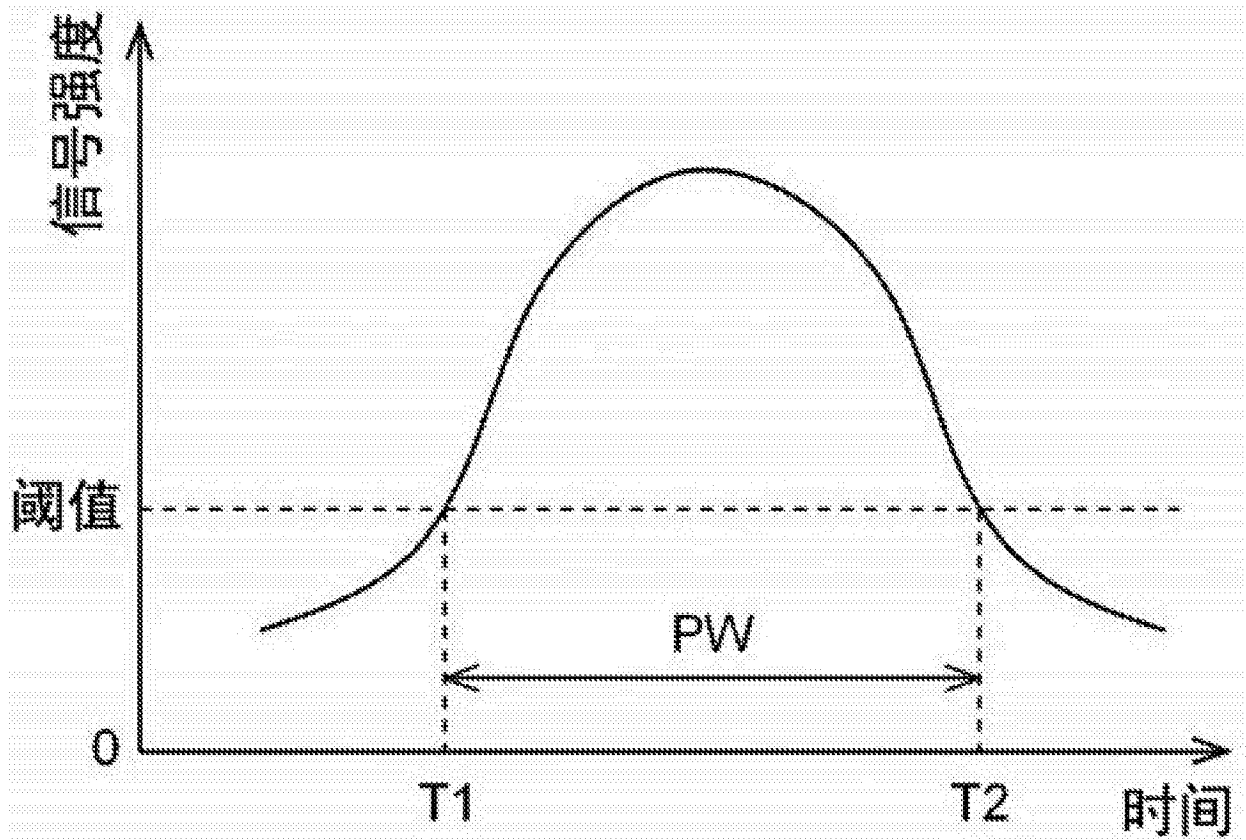


图 4B

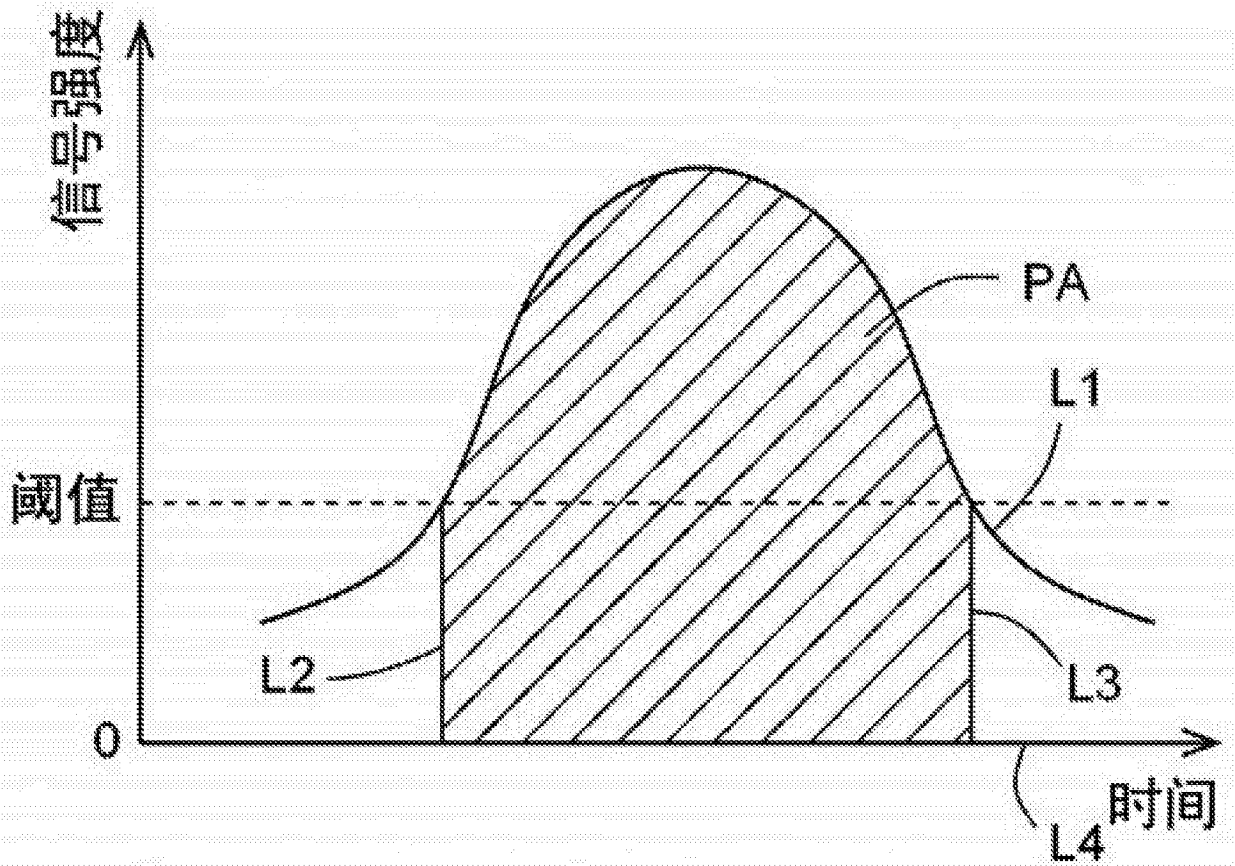


图 4C

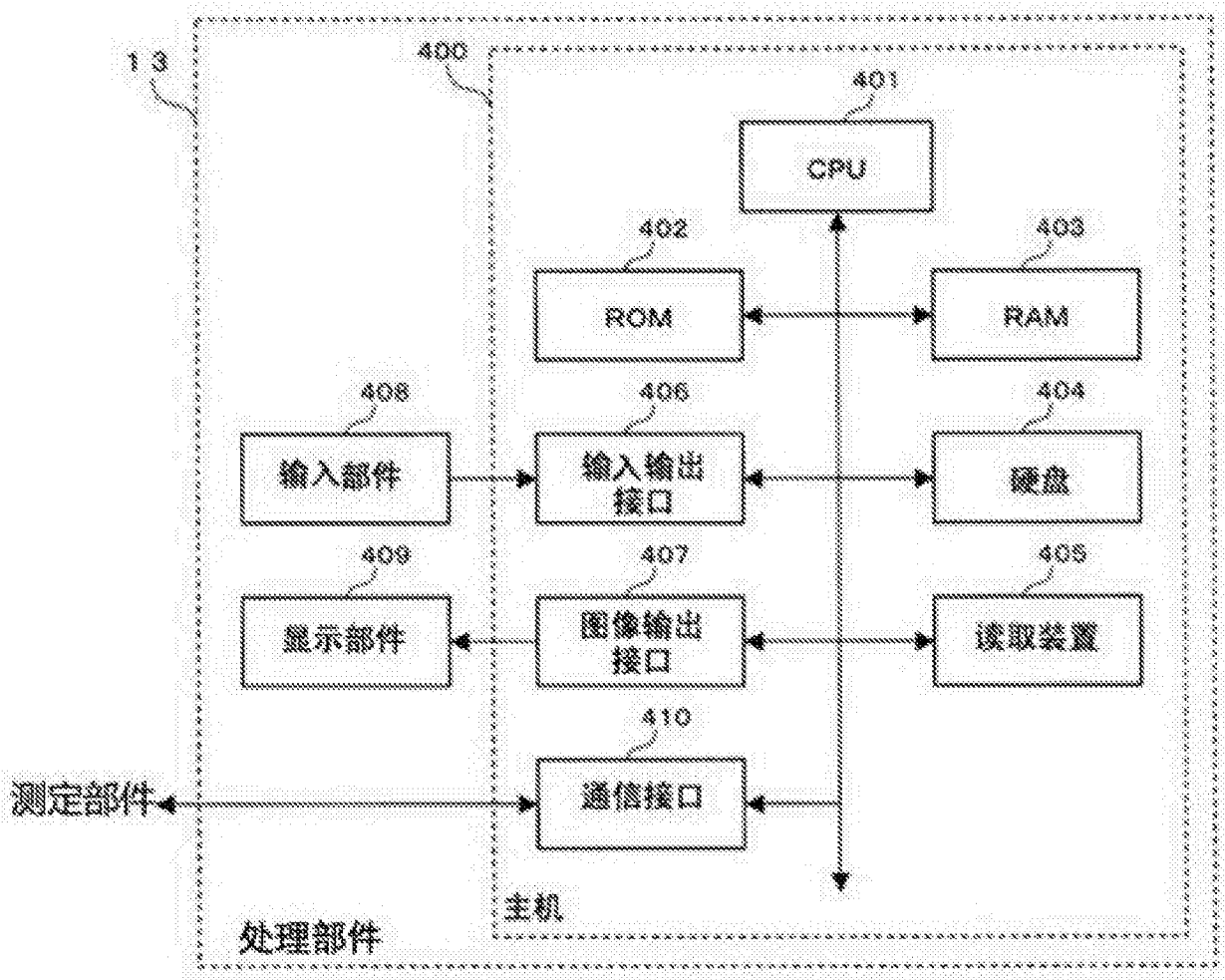


图 5

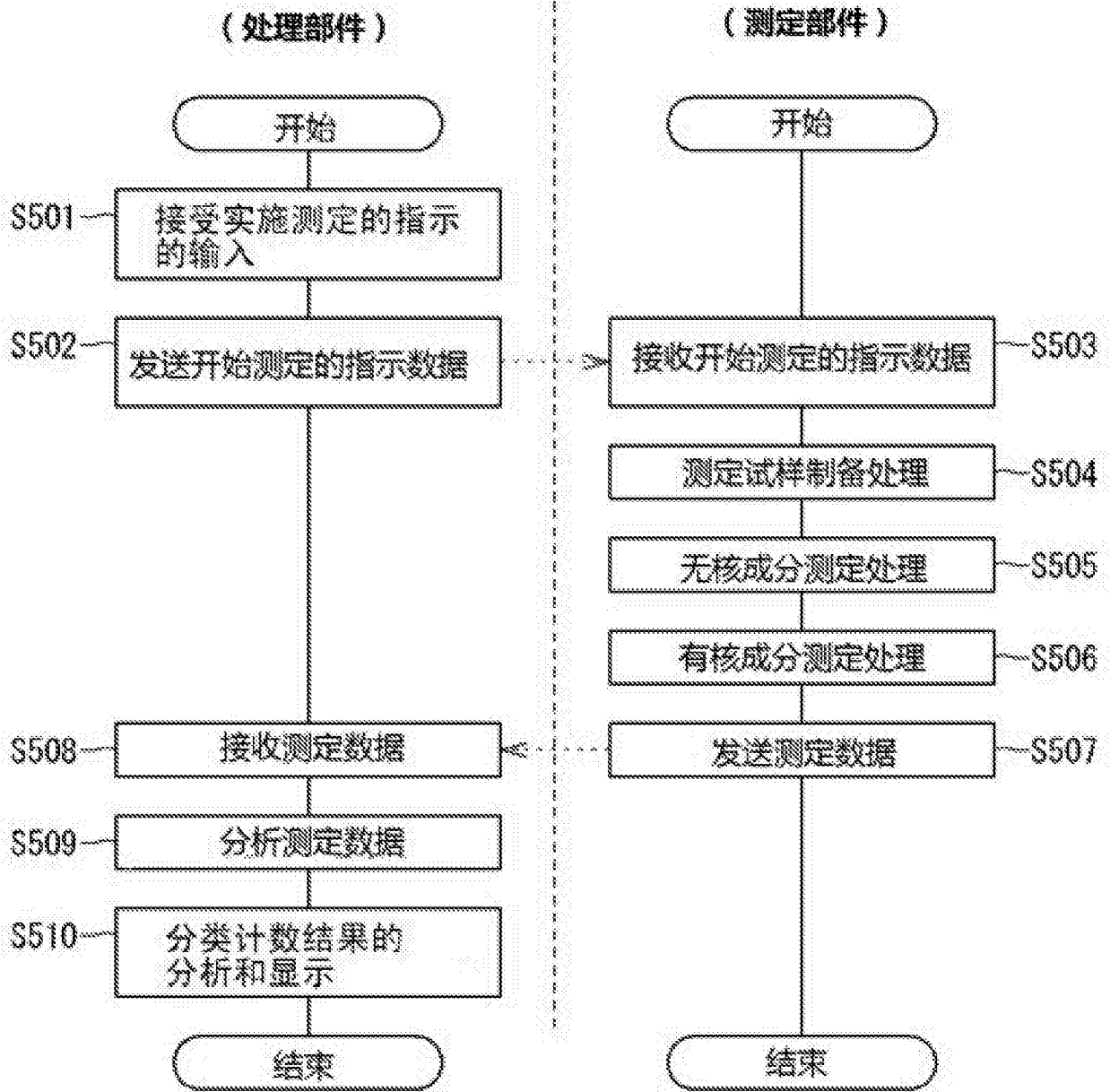


图 6

450

Sample ID

体液种类

- 无指定
- 脑脊髓液 (CSF)
- 关节液
- 体腔液 · 其他

图 7



图 8

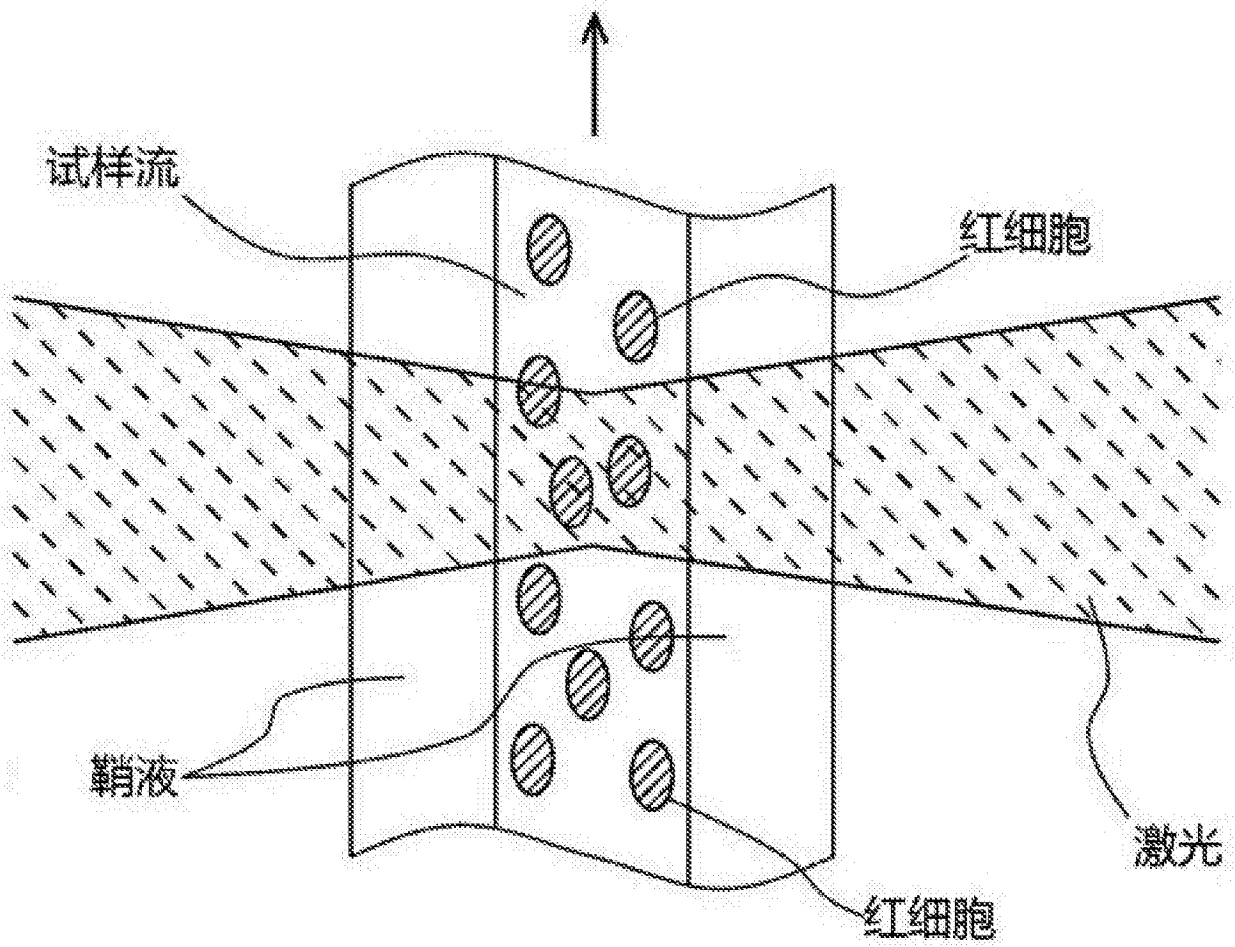


图 9A

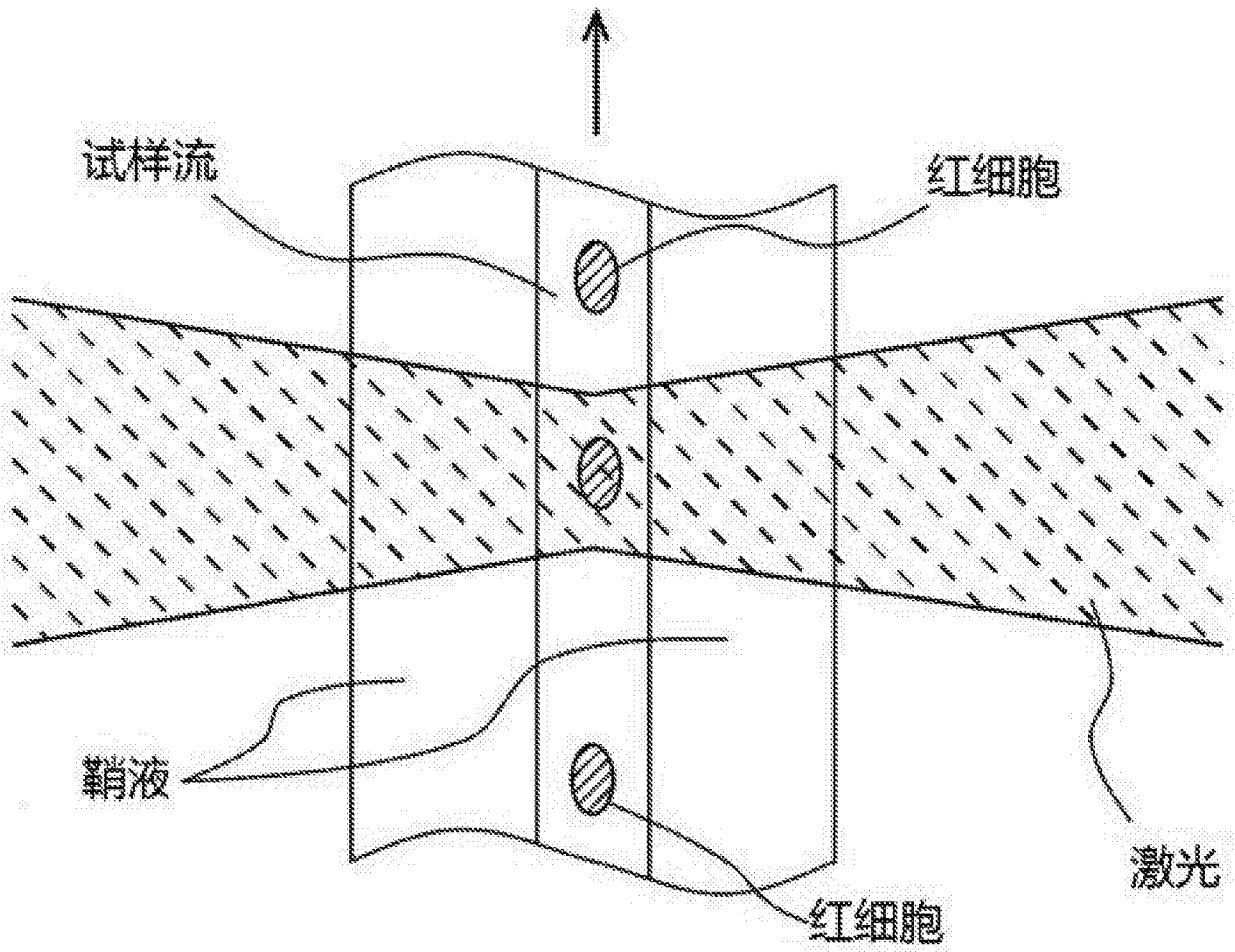


图 9B

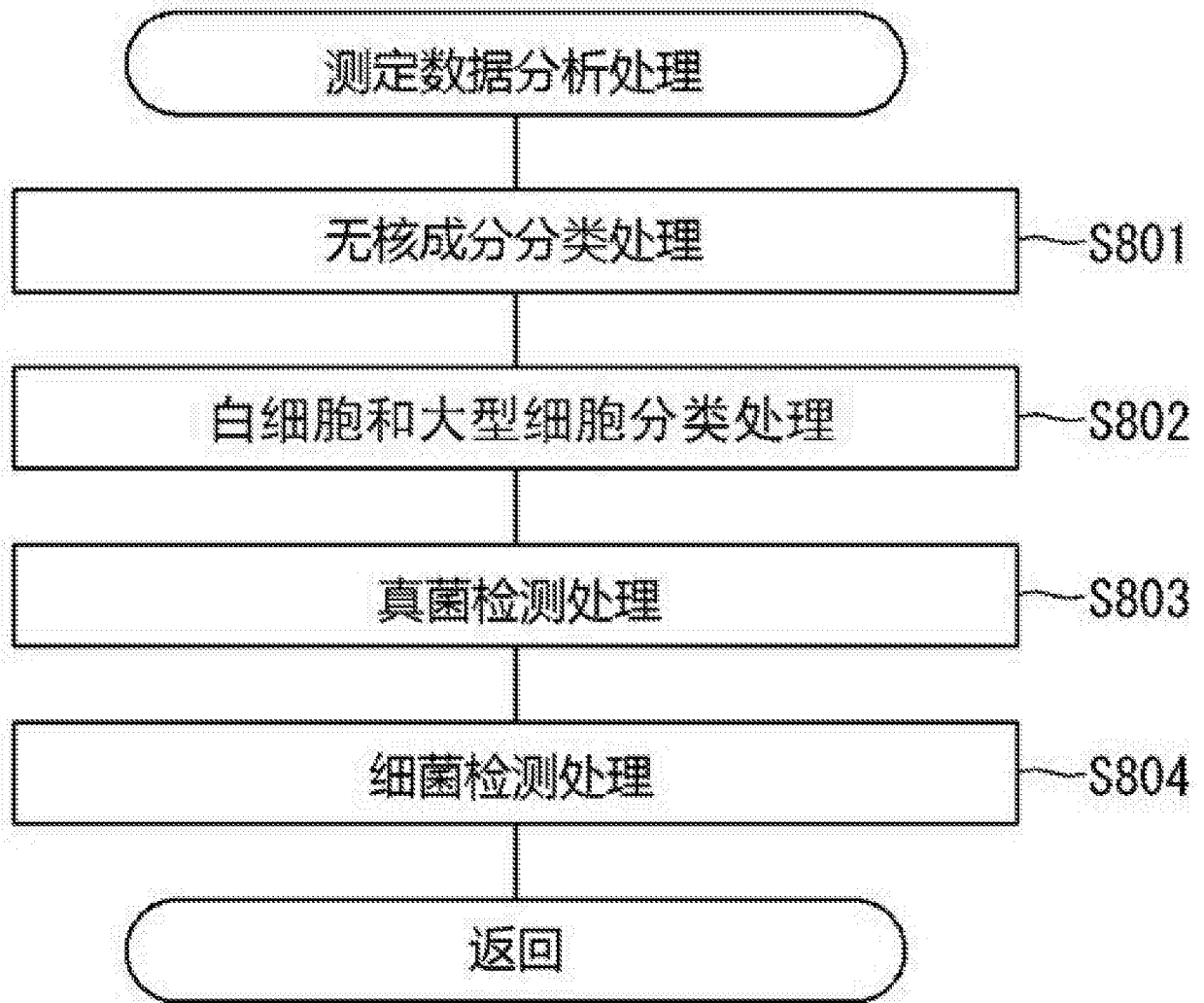


图 10

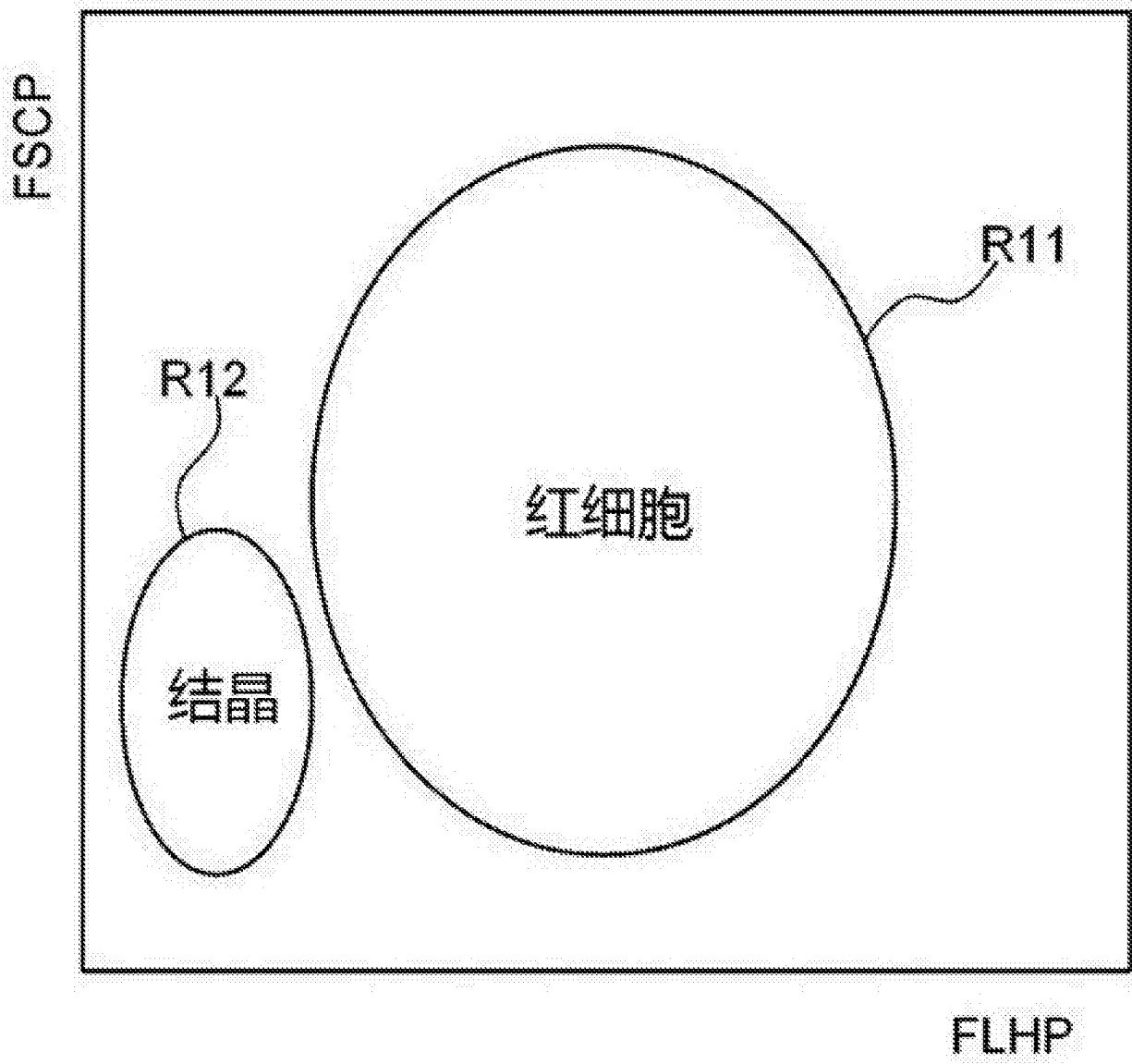


图 11

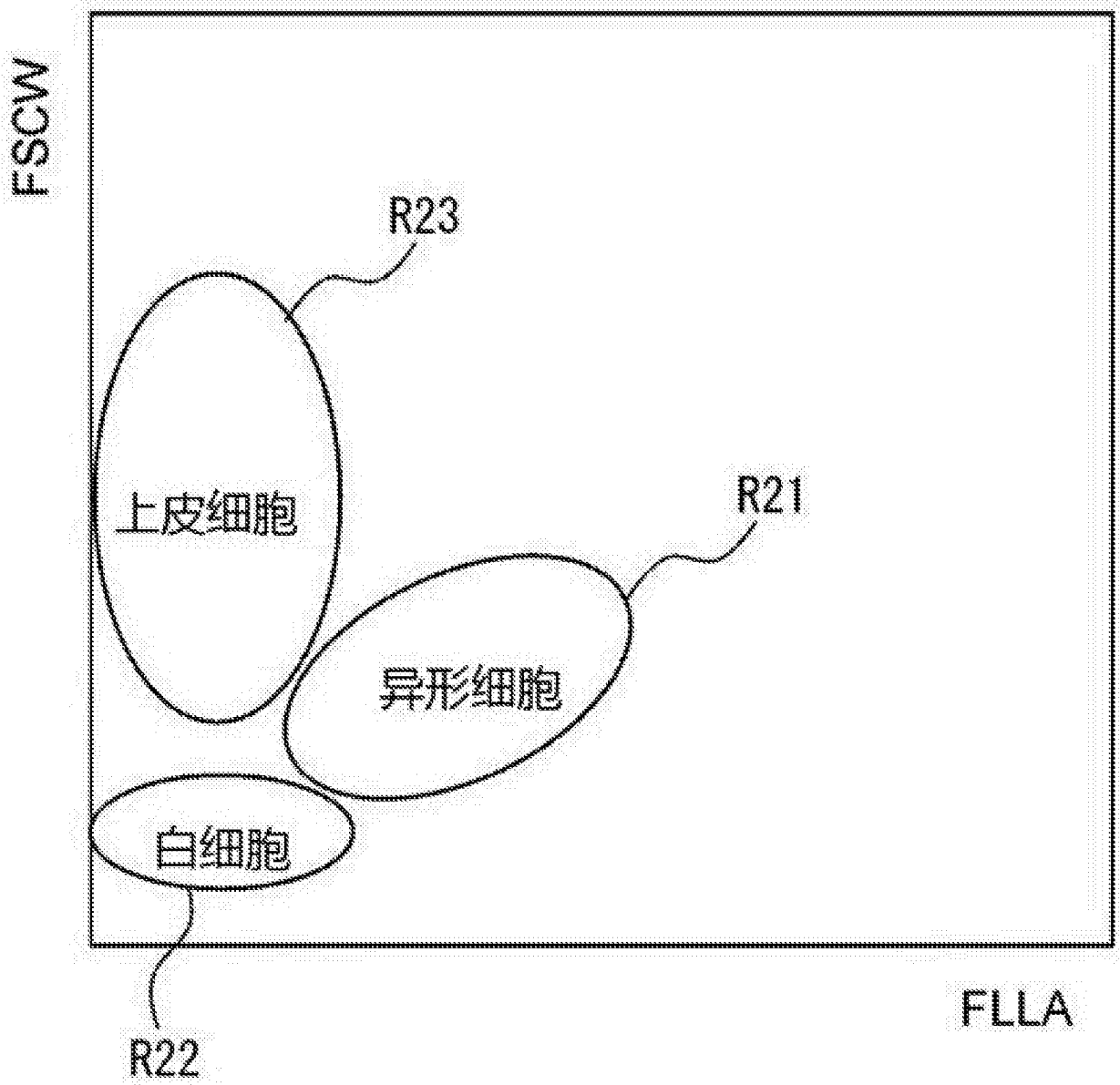


图 12A

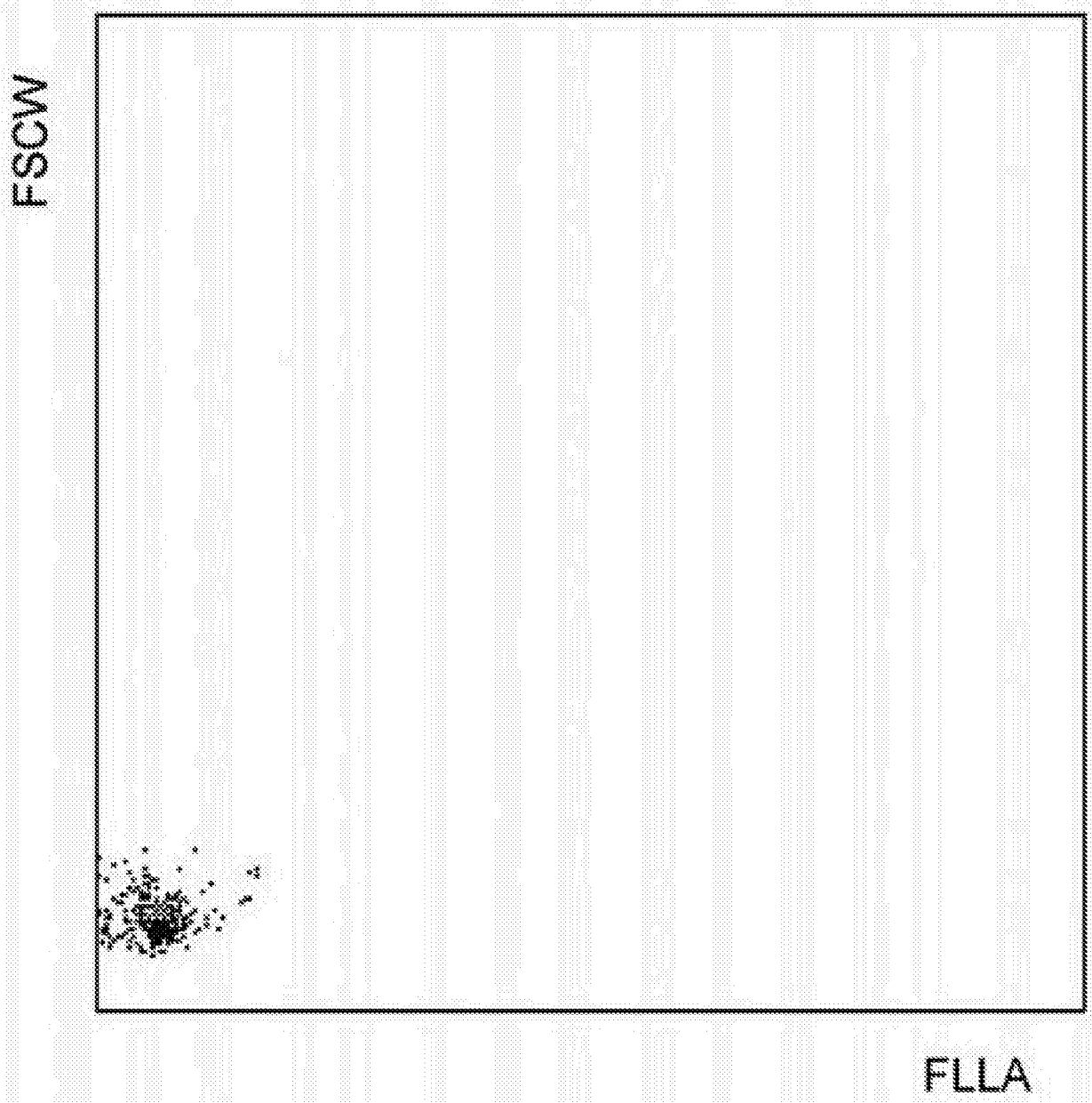


图 12B

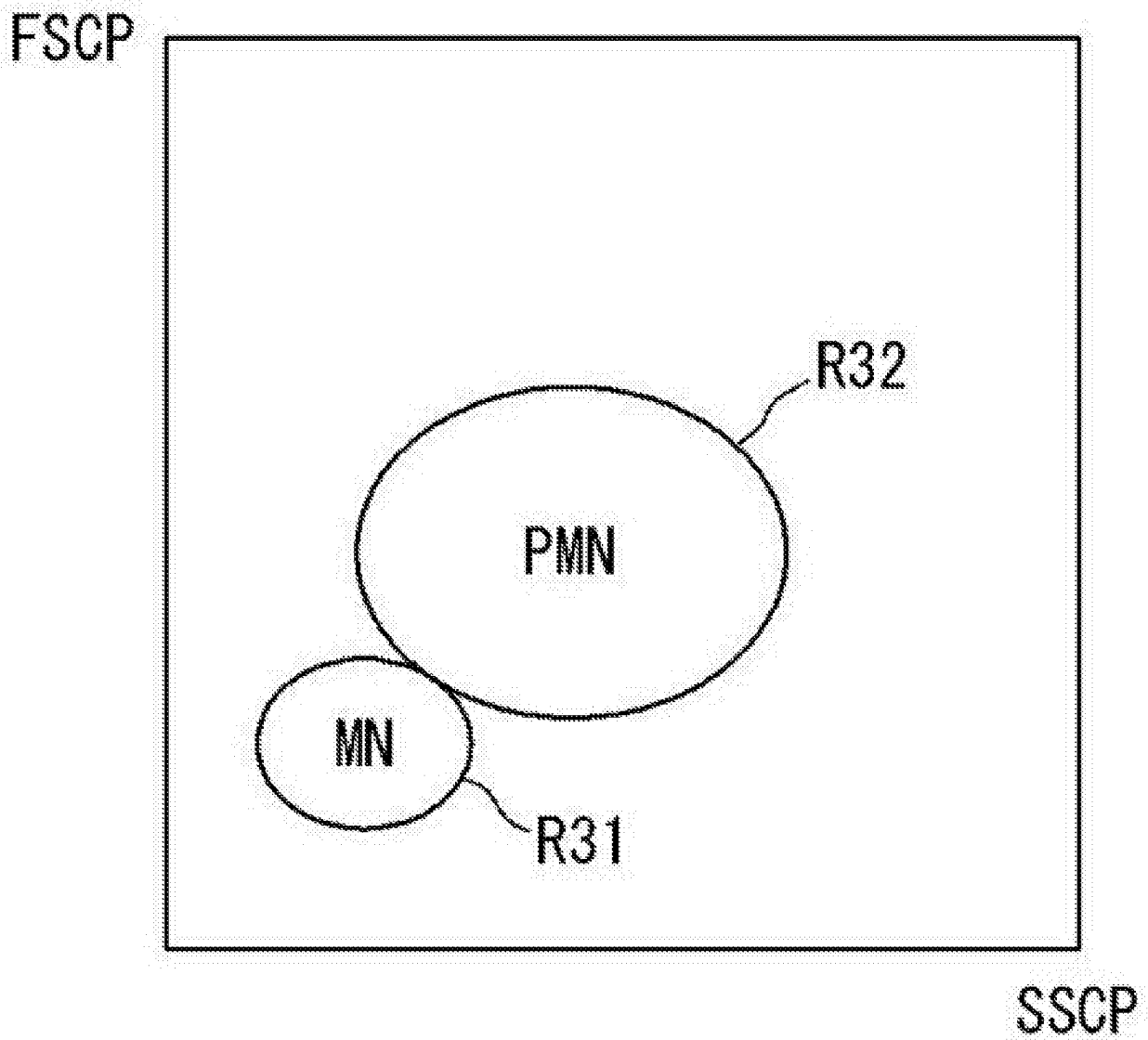
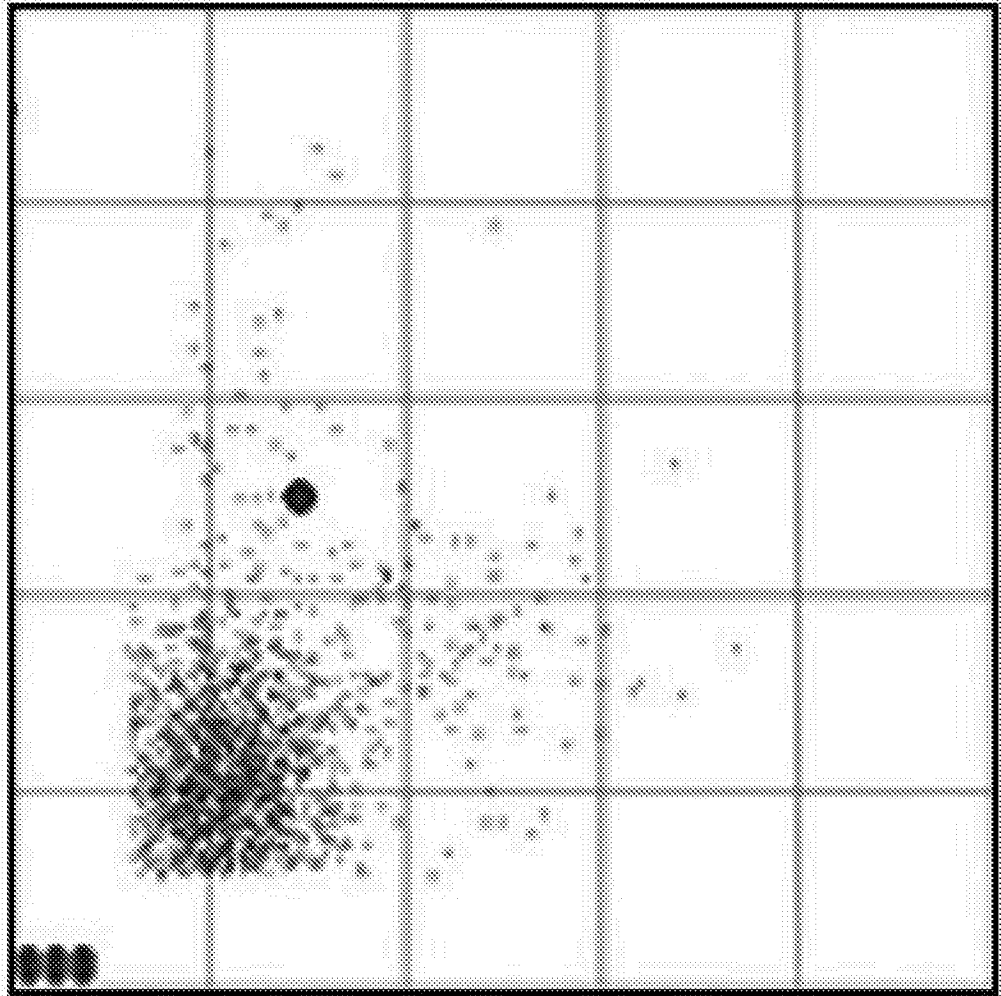


图 13

FSCP



SSCP

图 14A

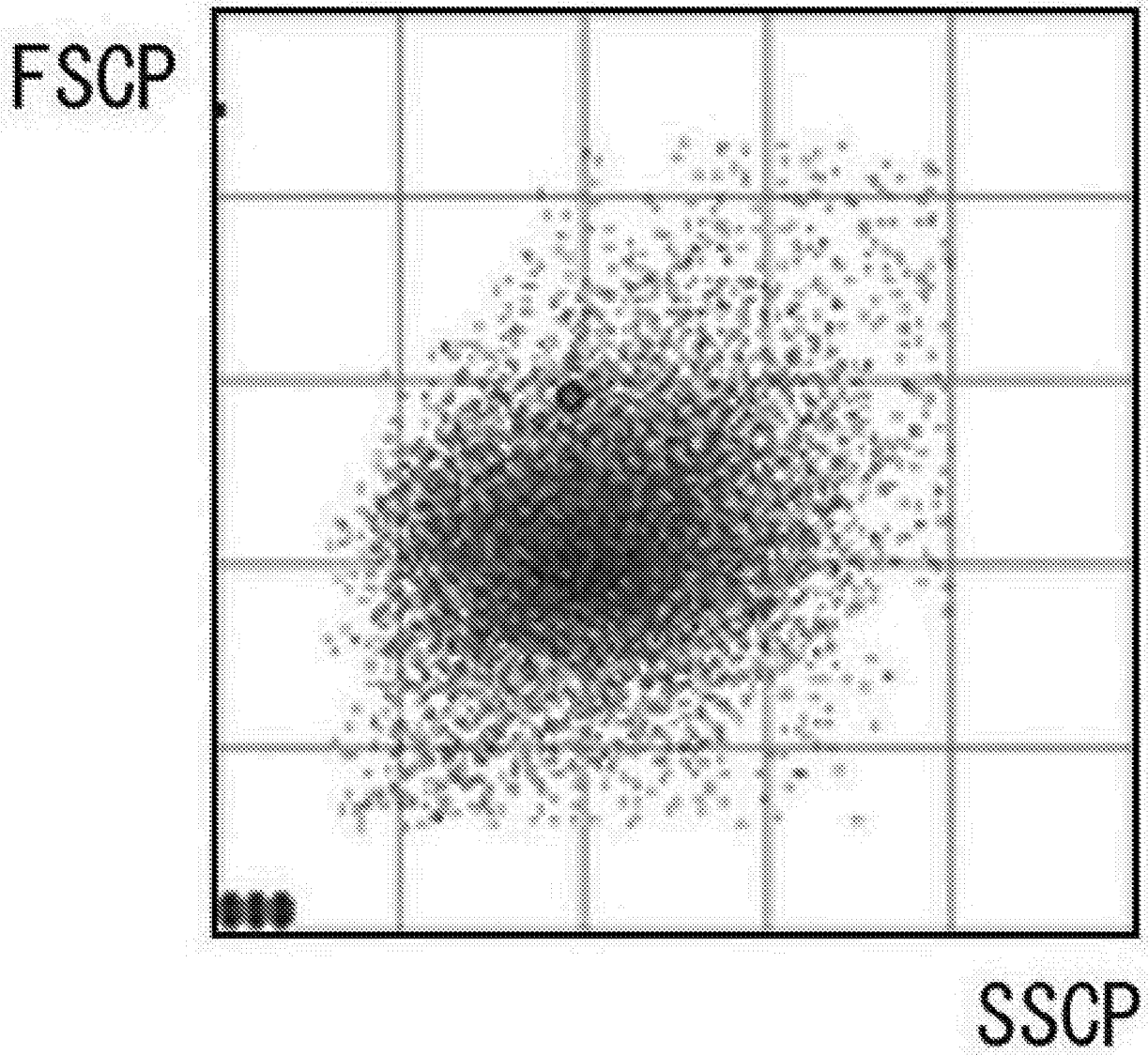
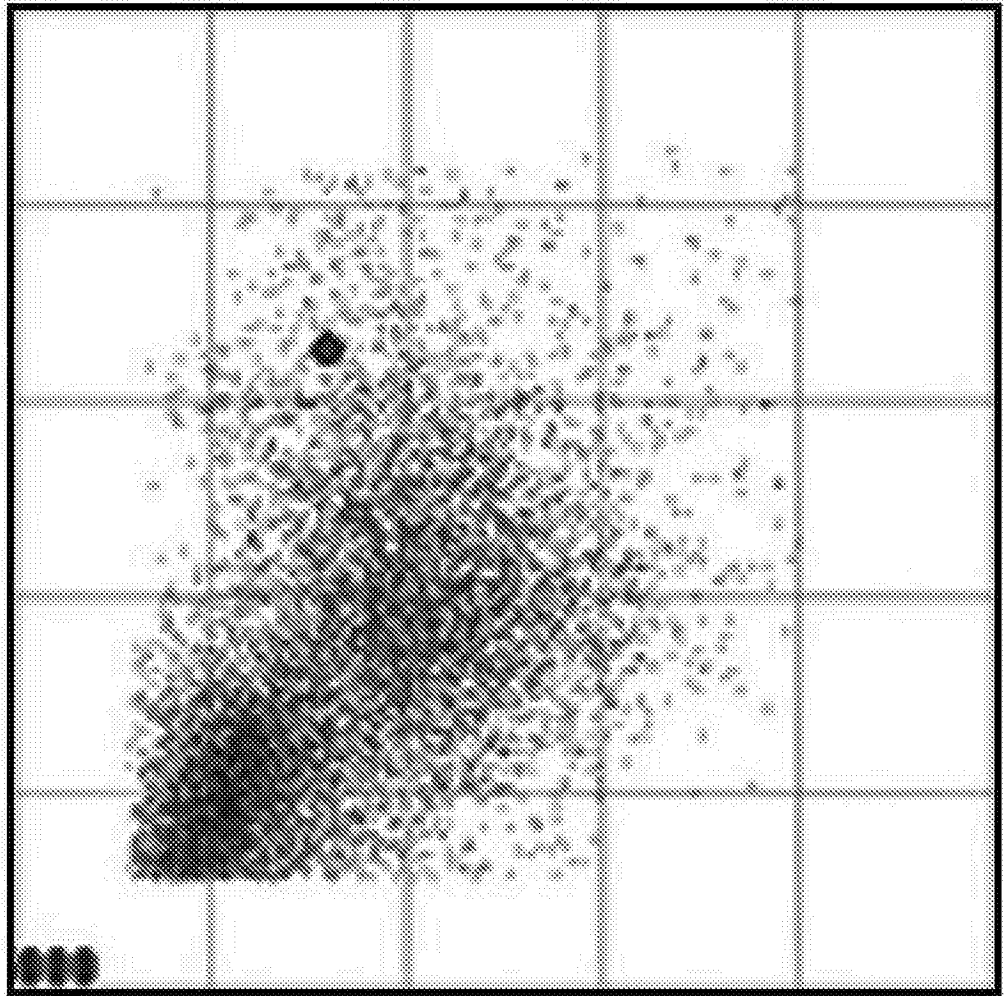


图 14B

FSCP



SSCP

图 14C

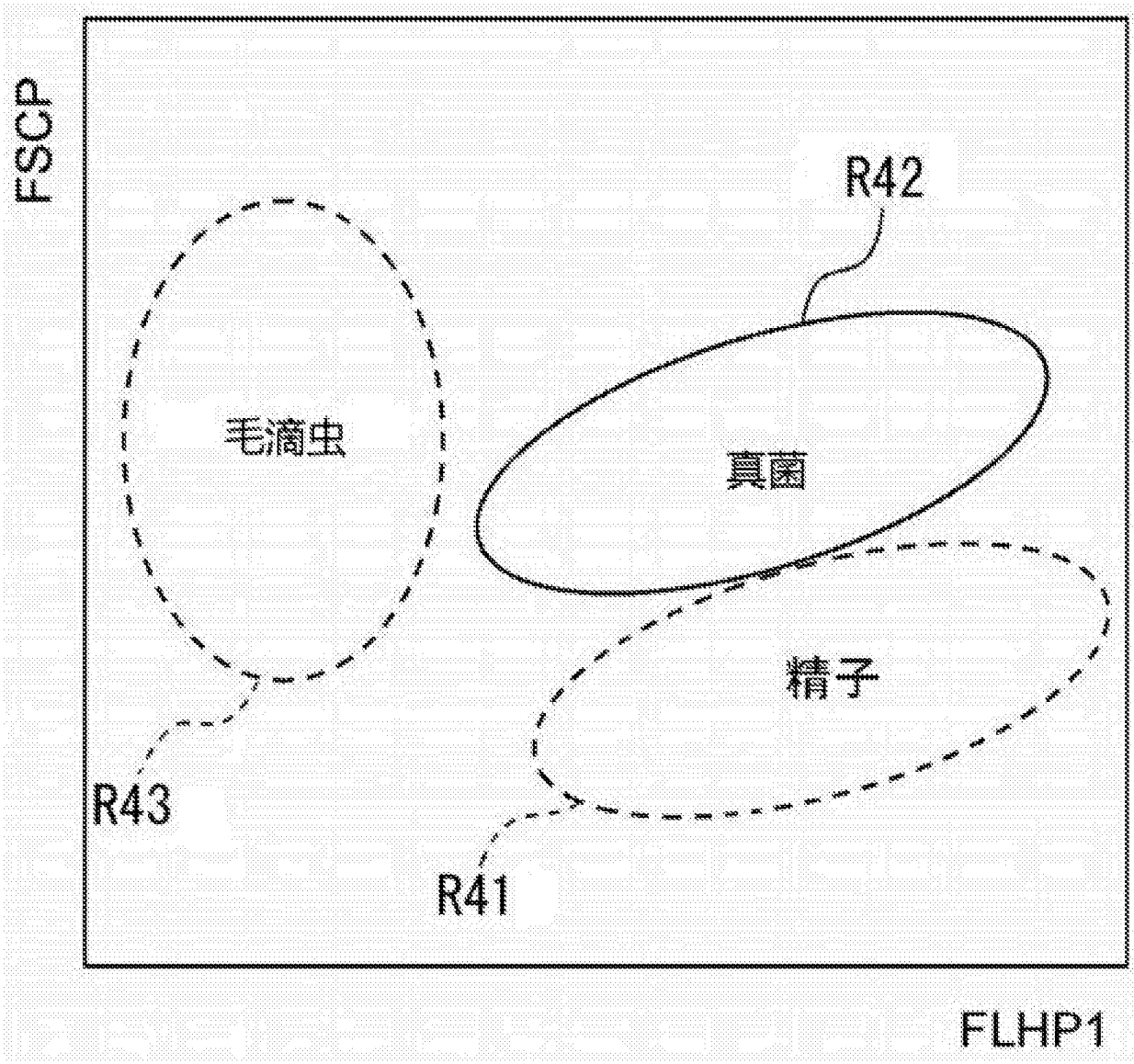


图 15A

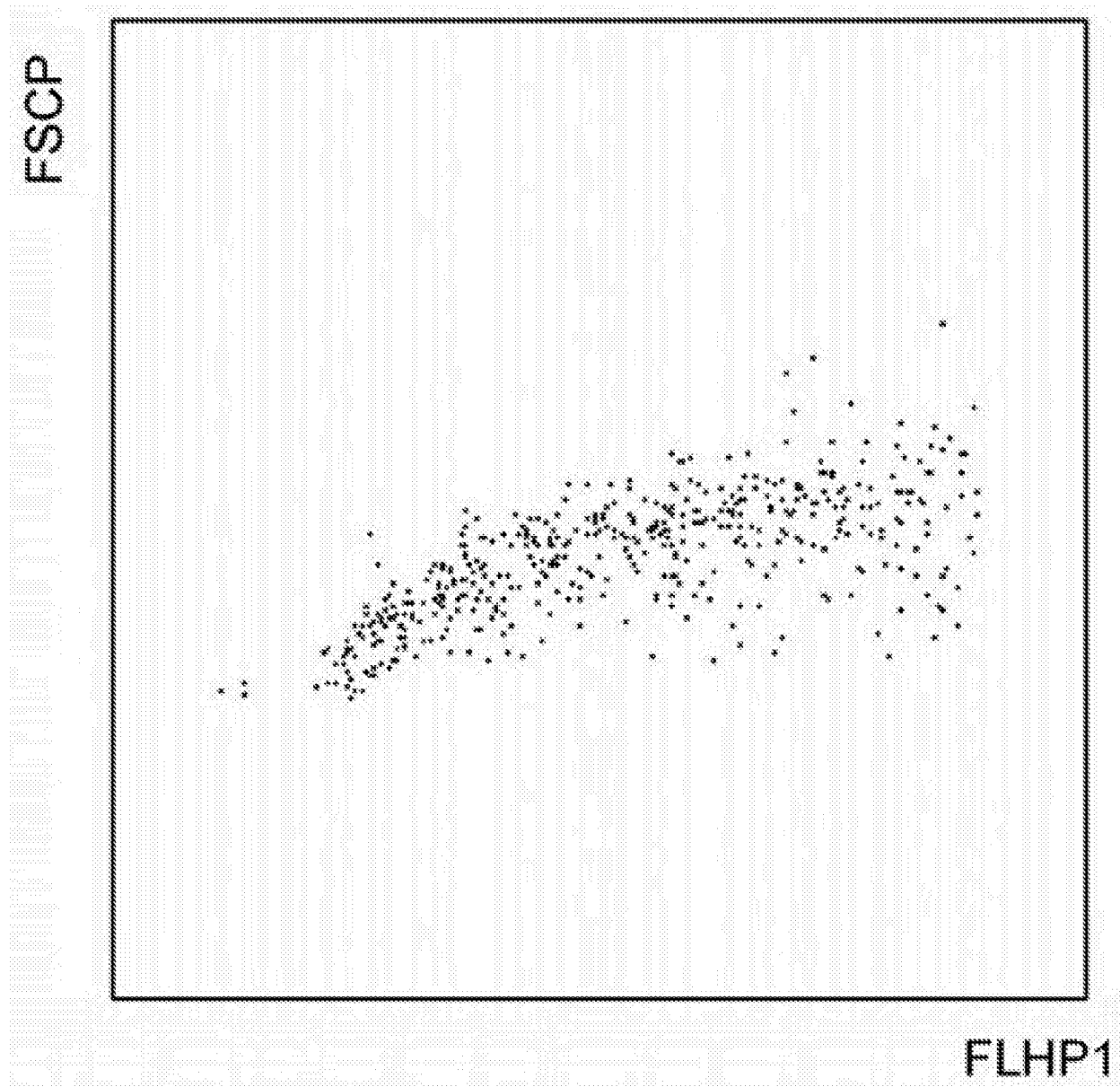


图 15B

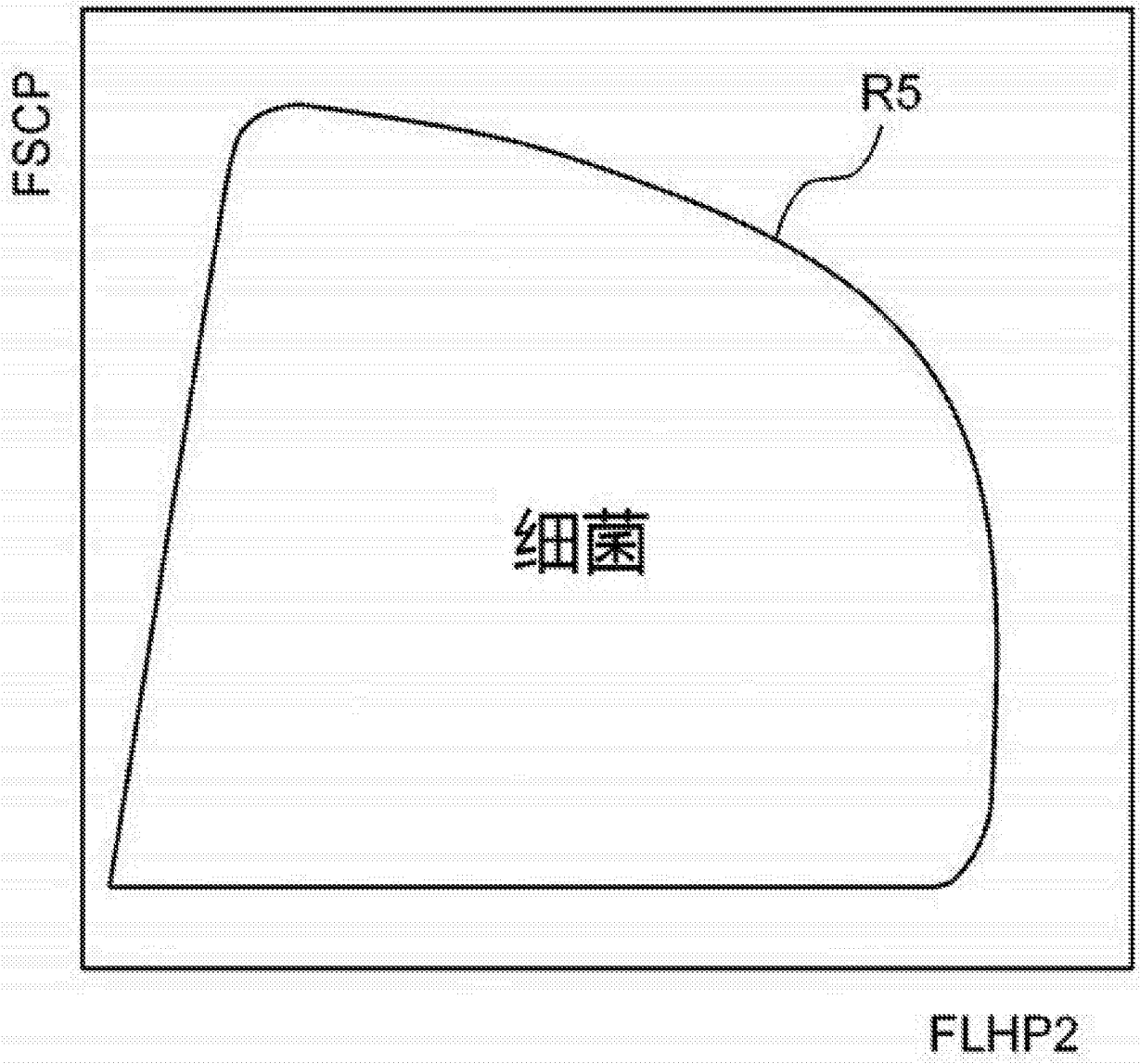


图 16

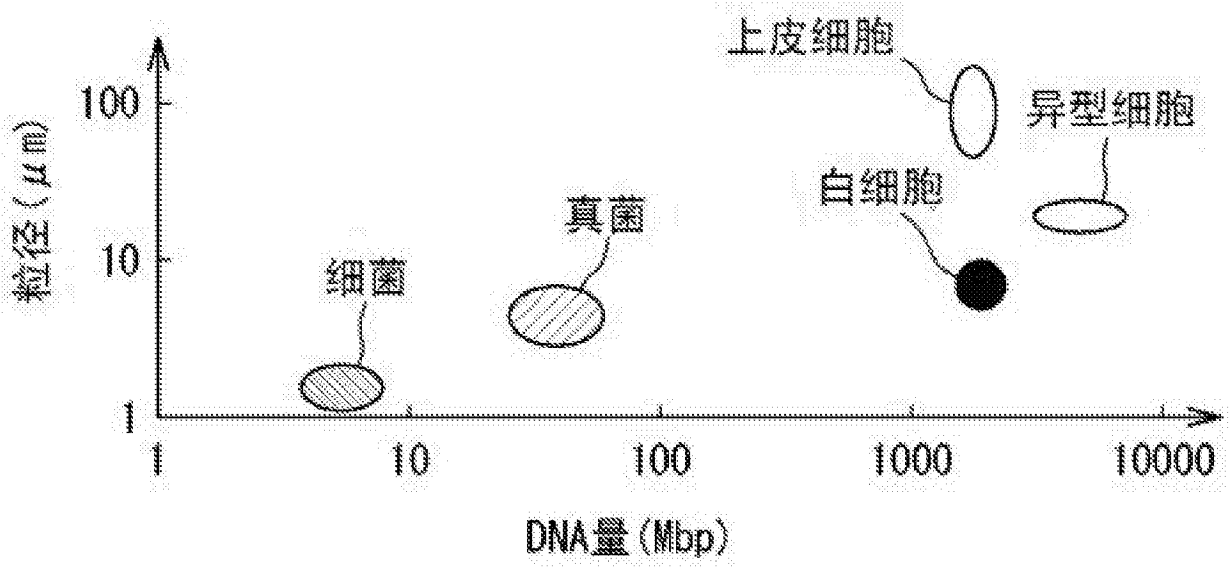


图 17

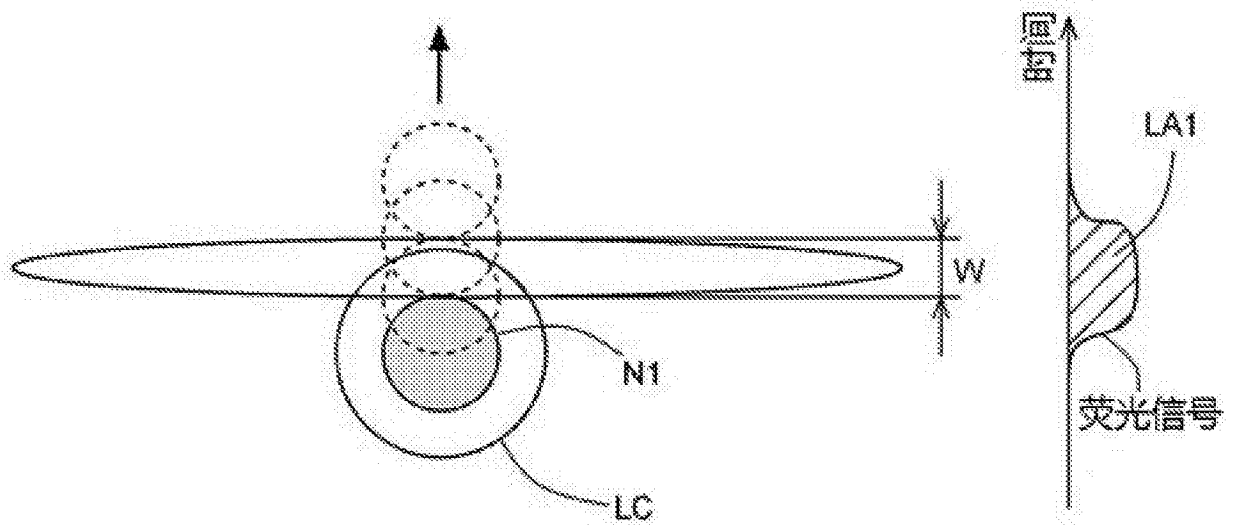


图 18A

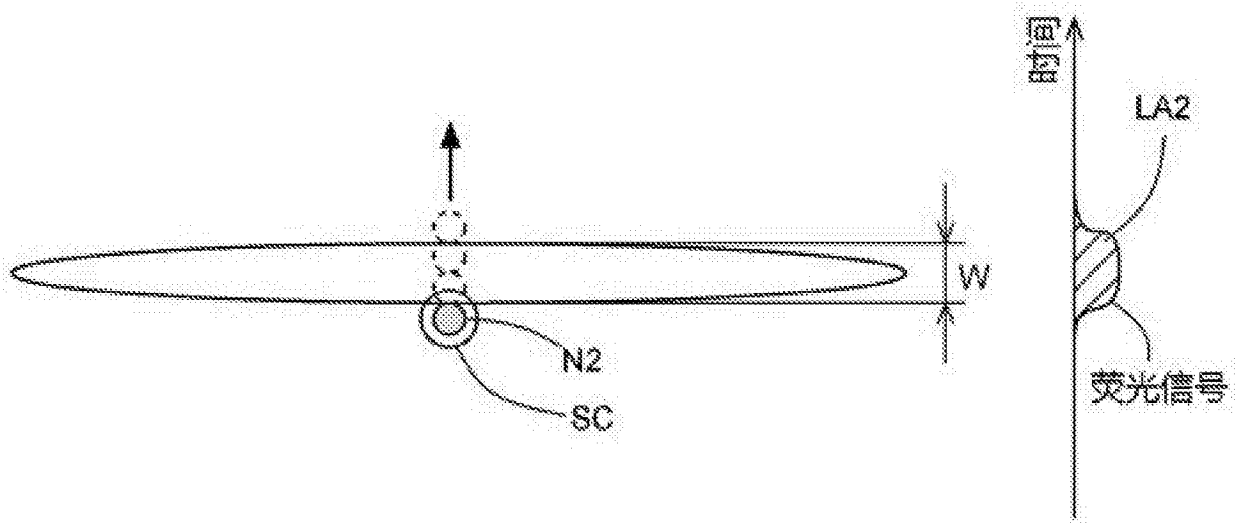


图 18B

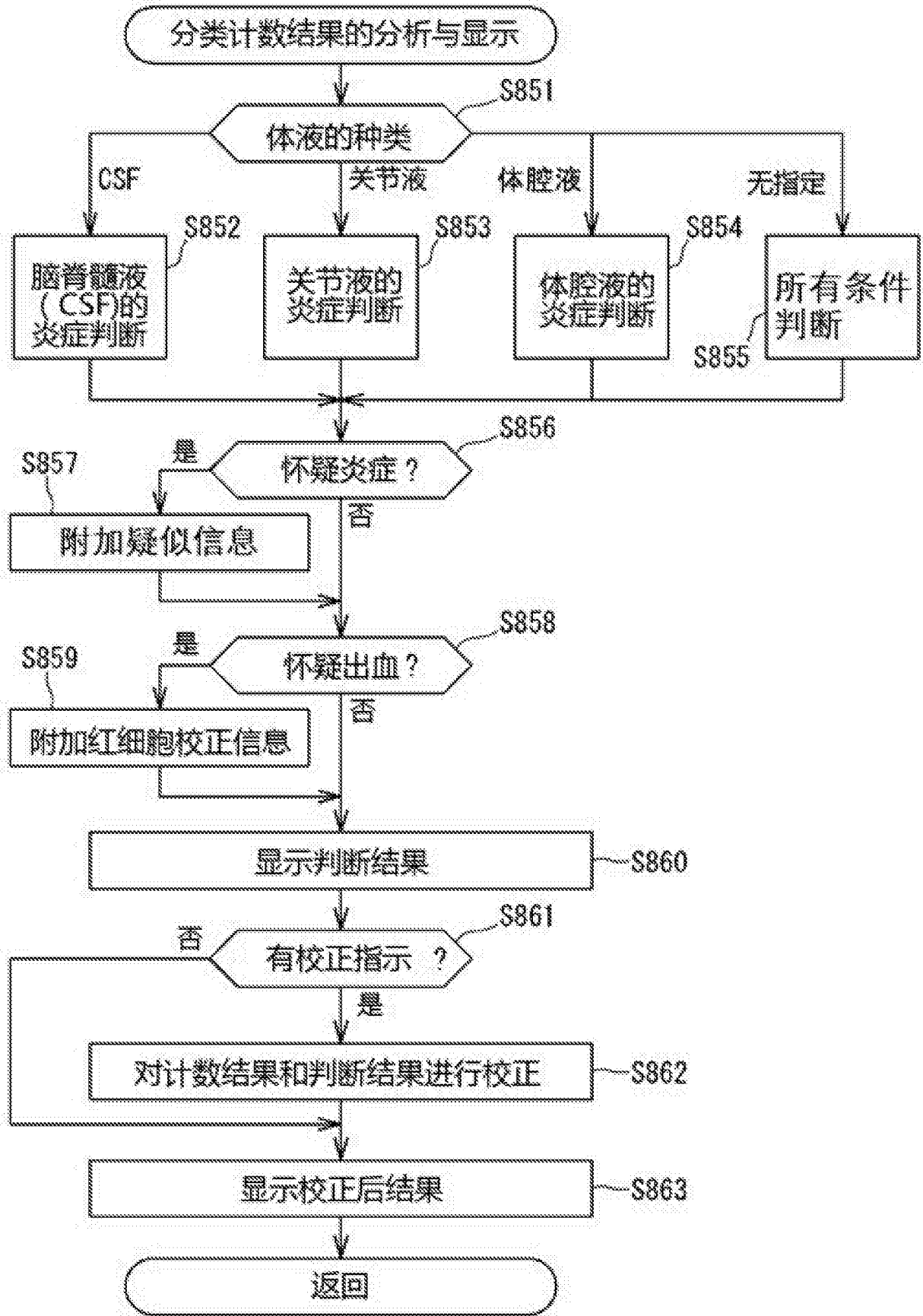



图 19



图 20

样本 ID: 3456
体液的种类 : CSF

红细胞数 XXXX/ μ L:
白细胞数 YYY Y/ μ L

 内出血 ?

校正细胞数 ?

是 否

图 21

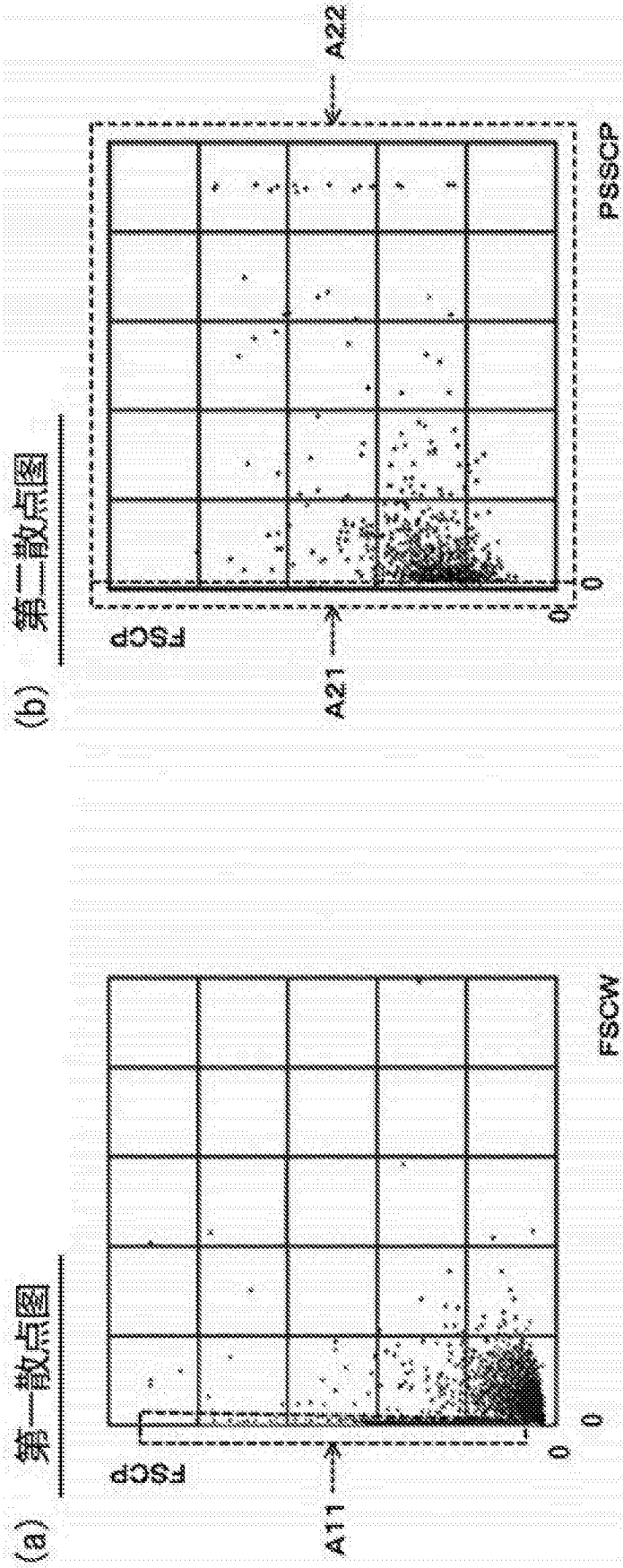


图 22